

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 626 820**

51 Int. Cl.:

**C07D 307/22** (2006.01)  
**C07D 309/14** (2006.01)  
**C07C 255/58** (2006.01)  
**A61K 31/136** (2006.01)  
**A61K 31/341** (2006.01)  
**A61K 31/351** (2006.01)  
**A61P 21/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.10.2012 PCT/US2012/058824**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.04.2013 WO13055577**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2012 E 12775406 (7)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2766350**

54 Título: **Moduladores selectivos del receptor de andrógenos**

30 Prioridad:

**13.10.2011 US 201161546711 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.07.2017**

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)  
Lilly Corporate Center  
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**JADHAV, PRABHAKAR KONDAJI;  
SAEED, ASHRAF;  
GREEN, JONATHAN EDWARD;  
KRISHNAN, VENKATESH;  
MATTHEWS, DONALD PAUL y  
STEPHENSON, GREGORY ALAN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 626 820 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

## Moduladores selectivos del receptor de andrógenos

El receptor de andrógenos (RA) es parte de la subfamilia de receptores de hormonas nucleares esteroideas que también incluye el receptor de mineralocorticoides (RM), el receptor de progesterona (RP), el receptor de estrógenos (RE) y el receptor de glucocorticoides (RG). Los andrógenos esteroideos endógenos (por ejemplo, testosterona y 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT)) son las principales hormonas sexuales circulantes y desempeñan un papel en la regulación de diversos procesos fisiológicos. Los efectos anabólicos (por ejemplo, la construcción de tejido) de los andrógenos incluyen el aumento de la masa y la fuerza musculares y el aumento de la masa y la densidad óseas, mientras que los efectos androgénicos (por ejemplo, la masculinización) incluyen el desarrollo de los tejidos reproductores internos (por ejemplo, próstata y vesículas seminales), los genitales externos, los patrones de crecimiento de vello masculino y la libido. Clínicamente, la terapia de sustitución androgénica se ha utilizado en el tratamiento de diversas afecciones y trastornos que incluyen el hipogonadismo masculino, las enfermedades de desgaste muscular y la caquexia.

Sin embargo, la terapia con andrógenos esteroideos es limitada. Por ejemplo, se ha descubierto que las preparaciones de andrógenos esteroideos sufren una rápida degradación en el hígado que conduce a una biodisponibilidad oral mala y a la corta duración de la actividad tras la administración parenteral, variaciones en los niveles plasmáticos, hepatotoxicidad o reactividad cruzada con otros receptores de hormonas esteroideas, tales como RG, RM y RP. Adicionalmente, se ha observado que los andrógenos no esteroideos y esteroideos anabólicos orales producen una mayor disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en los hombres y las mujeres eugonadales con respecto a los andrógenos parenterales. Se ha señalado que la disminución de HDL da como resultado malos resultados de salud cardiovascular.

Por tanto, sigue existiendo una necesidad de alternativas a la terapia con andrógenos esteroideos. Más en particular, sigue existiendo una necesidad de agonistas no esteroideos del RA que se unen al RA con mayor afinidad con respecto a los otros receptores de hormonas esteroideas. Incluso más en particular, sigue existiendo una necesidad de moduladores selectivos de tejido del receptor de andrógenos (SARM, del inglés *tissue-selective androgen receptor modulator*) que presenten una actividad agonista de andrógenos en tejidos anabólicos tales como el músculo o el hueso, pero solo agonista parcial, antagonista parcial o antagonista en tejidos androgénicos tales como la próstata o la vesícula seminal. Los SARM pueden proporcionar los beneficios de los esteroideos anabólicos tradicionales, tales como el crecimiento del músculo o del hueso, mientras que minimizan los efectos proliferativos o hipertróficos sobre los tejidos sexuales.

La solicitud de patente internacional publicada WO 08/130879 desvela derivados de tetrahydroindol y tetrahydroindazol para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades/trastornos mejorados por la inhibición de la Proteína de Choque Térmico 90. Las solicitudes de patente internacional publicadas, WO09/105214 y WO06/124447, desvelan SARM no esteroideos de molécula pequeña. Aún así, existe una necesidad de nuevos compuestos SARM no esteroideos con una potencia y/o características farmacocinéticas mejoradas, tales como biodisponibilidad de exposición. También existe una necesidad de compuestos SARM eficaces. Adicionalmente, existe una necesidad de compuestos SARM que aumenten la masa muscular sin el efecto secundario del agrandamiento de la glándula prostática. Se sabe que los andrógenos y los compuestos SARM disminuyen las HDL a exposiciones eficaces cuando se entregan por vía oral. Por tanto, existe una necesidad de compuestos SARM que no disminuyan significativamente los niveles de HDL. La presente invención proporciona compuestos preferidos que modulan el receptor de andrógenos, que tienen un riesgo mínimo de disminución de las HDL a dosis eficaces cuando se entregan a través de una vía transdérmica.

Por tanto, la presente invención proporciona compuestos novedosos que son agonistas del RA. Más preferentemente, los compuestos son SARM. Dichos nuevos compuestos podrían abordar la necesidad de un tratamiento potente y eficaz de la atrofia muscular, el hipogonadismo o la caquexia con un mínimo riesgo de agrandamiento de la próstata o de disminución de las HDL.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula:



en la que

- n es 1 o 2;  
 X es -CH<sub>2</sub>- o -O-;  
 R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;  
 R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;  
 5 R<sup>3</sup> es -H o -OH;

en la que R<sup>3</sup> es -H cuando X es -O-;  
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 La presente invención proporciona adicionalmente una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptables. La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un solvato, en la que las moléculas de solvato incluyen etanol e isopropanol. En una realización adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de la atrofia muscular asociada al reemplazo de cadera o de rodilla, la fractura de cadera, la lesión medular o el ictus, que comprende un compuesto de la invención en combinación con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización adicional más, la composición farmacéutica comprende adicionalmente uno o más de otros agentes terapéuticos. En otra realización, la composición farmacéutica tiene un riesgo mínimo de disminución de las HDL.

20 Adicionalmente, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia, en particular para el tratamiento o la prevención de la atrofia muscular. Incluso adicionalmente, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la atrofia muscular. En una realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de la atrofia muscular asociada al desuso, el traumatismo, la inmovilización, la lesión medular o el ictus. Incluso adicionalmente, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de la atrofia muscular asociada a la sustitución de cadera o de rodilla, la fractura de cadera, la lesión medular o el ictus. Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la atrofia muscular. En una realización adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la atrofia muscular asociada al reemplazo de cadera o de rodilla, la fractura de cadera, la lesión medular o el ictus.

35 La presente invención también proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención del hipogonadismo. También, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de la caquexia. Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención del hipogonadismo o la caquexia. La presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención del hipogonadismo o la caquexia.

45 La presente invención también proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención de lesiones relacionadas con caídas en ancianos con debilidad muscular. Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para la prevención de lesiones relacionadas con caídas en ancianos con debilidad muscular.

50 La presente invención también proporciona un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la inversión, el tratamiento o la prevención de los efectos adversos de la terapia de privación de andrógenos (ADT, del inglés *androgen deprivation therapy*). Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para la inversión, el tratamiento o la prevención de los efectos adversos de la ADT.

La presente invención también abarca productos intermedios y procedimientos útiles para la síntesis de un compuesto de la presente invención.

55 Se cree que un compuesto de la presente invención es útil en el tratamiento o la prevención de afecciones con pérdida de masa muscular o de la atrofia muscular. La atrofia muscular puede producirse como un resultado natural del envejecimiento (por ejemplo, sarcopenia). Como alternativa, la atrofia muscular puede producirse como una consecuencia secundaria del desuso o la inactividad (por ejemplo, tras la sustitución de cadera o de rodilla o la fractura de cadera), el traumatismo, la inmovilización (por ejemplo, el escayolado o la colocación de una férula en las

extremidades), así como la lesión medular o el ictus. (Véase, Hafer-Macko y col., *J. Rehab. Res. Develop.*; 45(2): 261-272 (2008)). Por tanto, la expresión "atrofia muscular", como se usa en el presente documento, es sinónimo de pérdida de masa muscular y se refiere a una afección en la que un paciente ha perdido masa muscular debido a una patología tal como el cáncer, el VIH, o como resultado de un período o períodos prolongados de inactividad o como un tratamiento adyuvante después de la cirugía, donde períodos significativos de inactividad tienen o pueden tener como resultado la pérdida de masa muscular. Adicionalmente como se usa en el presente documento, la expresión "atrofia muscular asociada al desuso, el traumatismo, la inmovilización, la lesión medular o el ictus" se refiere a la atrofia muscular que se produce como consecuencia secundaria a la incidencia del desuso o la inactividad (por ejemplo, tras el reemplazo de cadera o de rodilla o la fractura de cadera), el traumatismo, la inmovilización (por ejemplo, el escayolado o la colocación de una férula en las extremidades), la lesión medular o el ictus. Además, en el contexto de la lesión medular o el ictus, un compuesto de la presente invención puede usarse como un adyuvante de la terapia de rehabilitación convencional (por ejemplo, la terapia física u ocupacional, el ejercicio, la caminata asistida y/o el entrenamiento de fuerza). Incluso adicionalmente, un compuesto de la presente invención puede usarse para el tratamiento o la prevención de las comorbilidades como resultado de caídas debido a la atrofia muscular de miembros inferiores como se evidencia por los cambios en las mediciones objetivas que evalúan el riesgo de caídas en los ancianos (véase Close y Lord, *BMJ* 2011; 343:d5153).

Se cree que un compuesto de la presente invención es útil en la inversión, el tratamiento o la prevención de los efectos adversos de la terapia hormonal para el cáncer de próstata, también denominada terapia de privación de andrógenos (ADT, del inglés *androgen deprivation therapy*) o terapia de supresión de andrógenos.

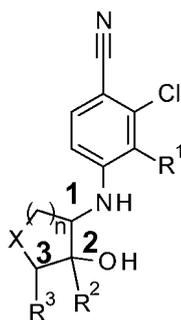
La Figura 1 es un espectrograma de un patrón de difracción de rayos X de polvo (DRX) representativo para la Forma 1 cristalina de 2-cloro-4-[[1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo. El espectrograma de DRX se obtuvo como se describe en el Ejemplo 1C a continuación. La Figura 2 es un espectrograma de un patrón de DRX representativo para la Forma 2 cristalina de 2-cloro-4-[[1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo. El espectrograma de DRX se obtuvo como se describe en el Ejemplo 1D a continuación. La Figura 3 es un espectrograma de un patrón de DRX representativo para el solvato de etanol cristalino de 2-cloro-4-[[1R,2R)-2-hidroxi-2-metilciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo. El espectrograma de DRX se obtuvo como se describe en el Ejemplo 1E a continuación. La Figura 4 es un espectrograma de un patrón de DRX representativo para el solvato de isopropanol cristalino de 2-cloro-4-[[1R,2R)-2-hidroxi-2-metilciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo. El espectrograma de DRX se obtuvo como se describe en el Ejemplo 1F continuación.

Se entiende que la expresión "cantidad eficaz" significa la dosis o las dosis de un compuesto de la invención requeridas para el tratamiento de la atrofia muscular, el hipogonadismo o la caquexia en un mamífero. Un compuesto de la presente invención es en general eficaz en un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente entran dentro del intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal. En algunos casos, pueden ser más que adecuados niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado anteriormente, mientras que en otros casos pueden emplearse dosis aún mayores manteniendo un perfil de beneficio/riesgo favorable, y por tanto no se pretende que el intervalo de dosificación anterior limite el ámbito de la invención de ninguna manera. Se entenderá que es probable que la cantidad de un compuesto administrada en realidad sea determinada por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluyendo la afección que se trata, la vía de administración elegida, el compuesto o compuestos administrados en realidad, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual y la gravedad de los síntomas del paciente.

El término "tratar" (o "tratado" o "tratamiento") como se usa en el presente documento se refiere a impedir, restringir, ralentizar, detener o invertir la progresión o la gravedad de un síntoma, una afección o un trastorno existentes. El término "prevenir" (o "prevenido" o "prevención") como se usa en el presente documento se refiere a impedir, restringir o inhibir la incidencia o la aparición de un síntoma, afección o trastorno. Los síntomas, las afecciones o los trastornos pueden presentarse como acontecimientos "crónicos" o "agudos". En un acontecimiento agudo el compuesto se administra al inicio del síntoma, afección o trastorno y se interrumpe cuando el acontecimiento desaparece, mientras que un síntoma, una afección o un trastorno crónicos se tratan durante todo el transcurso del acontecimiento. La presente invención contempla tanto el tratamiento agudo como el crónico.

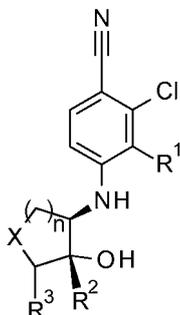
Un compuesto de la presente invención puede reaccionar con cualquiera de un número de ácidos inorgánicos y orgánicos para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlos son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, P. Stahl y col. *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, segunda edición revisada (Wiley-VCH, 2011); S.M. Berge y col., "*Pharmaceutical Salts*", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, N.º 1, enero de 1977.

El experto en la materia apreciará que los compuestos de la invención se componen de un núcleo que puede contener hasta tres centros quirales, como se ilustra en I(a) a continuación:



I(a)

Aunque la presente invención contempla todos los enantiómeros individuales, así como mezclas de los enantiómeros de dichos compuestos incluyendo los racematos, los compuestos con la configuración absoluta que se ilustra en I(b) a continuación son compuestos preferidos de la invención.



5

Los isómeros de los compuestos de la invención se etiquetan como isómero 1, isómero 2, etc., comenzando por el primero en eluir (menor tiempo de retención) del procedimiento de separación cromatográfica empleado y desvelado en el presente documento.

El experto apreciará que pueden crearse centros quirales adicionales en los compuestos de la invención mediante la selección de ciertas variables. La presente invención contempla todos los enantiómeros o diastereómeros individuales, así como mezclas de los enantiómeros y diastereómeros de dichos compuestos, incluyendo los racematos.

El experto en la materia también apreciará que las designaciones (R) o (S) de Cahn-Ingold-Prelog para todos los centros quirales variarán dependiendo de los patrones de sustitución del compuesto particular. Los enantiómeros o diastereómeros únicos pueden prepararse comenzando con reactivos quirales o mediante técnicas de síntesis estereoselectivas o estereoespecíficas. Como alternativa, los enantiómeros o diastereómeros únicos pueden aislarse de mezclas mediante técnicas cromatográficas o de cristalización quirales convencionales en cualquier punto conveniente de la síntesis de compuestos de la invención. Los enantiómeros y diastereómeros únicos de los compuestos de la invención son una realización preferida de la invención.

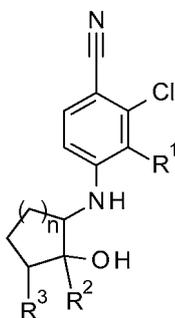
Como modulador del RA, un compuesto de la presente invención puede ser útil para el tratamiento de la atrofia muscular. Adicionalmente, un compuesto de la presente invención puede ser útil para el tratamiento del hipogonadismo. Incluso adicionalmente, un compuesto de la presente invención puede ser útil para el tratamiento de la caquexia. Otra realización de la presente invención es un compuesto de la presente invención para el tratamiento de una enfermedad o afección capaz de mejorarse o prevenirse mediante la modulación del RA. Una realización adicional de la presente invención es el uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección capaz de mejorarse o prevenirse mediante la modulación del RA.

Un compuesto de la presente invención se formula preferentemente como composiciones farmacéuticas administradas mediante una diversidad de rutas. Preferentemente, dichas composiciones son adecuadas para la entrega transdérmica y se formulan como un parche, un gel tópico, una pulverización tópica o una crema tópica. Dichas composiciones farmacéuticas y procedimientos para la preparación de las mismas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (A. Gennaro y col., eds, 21ª ed., Mack Publishing Co., 2005).

Aunque todos los compuestos ejemplificados de la invención son agonistas del receptor de andrógenos, se prefieren ciertas clases de compuestos. Los siguientes párrafos describen dichas clases preferidas:

- 5 a) n es 1;  
 b) n es 2;  
 c) X es -CH<sub>2</sub>-;  
 d) X es -O-;  
 e) R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>;  
 f) R<sup>1</sup> es -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;  
 g) R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>;  
 h) R<sup>2</sup> es H;  
 i) R<sup>3</sup> es -H;  
 10 j) R<sup>3</sup> es -OH;  
 k) R<sup>1</sup> es -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> cuando R<sup>3</sup> es -OH;  
 l) R<sup>1</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> cuando X es -O-;  
 m) R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> cuando X es -CH<sub>2</sub>-;  
 15 n) el compuesto de la presente invención es la base libre;  
 o) el compuesto de la presente invención es el solvato de etanol;  
 p) el compuesto de la presente invención es el solvato de isopropanol.

Una realización preferida de los compuestos de la presente invención se refiere a compuestos de la invención de la siguiente fórmula,

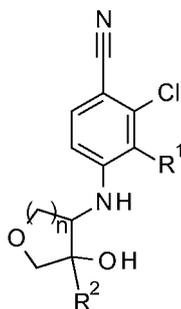


20 en la que

- n es 1 o 2;  
 R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;  
 R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;  
 R<sup>3</sup> es -H o -OH;

25 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Otra realización preferida de los compuestos de la presente invención se refiere a compuestos de la invención de la siguiente fórmula,



en la que

- 30 n es 1 o 2;  
 R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;  
 R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

35 Una realización preferida adicional de los compuestos de la presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula,



en la que

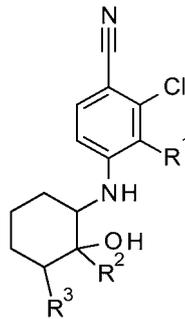
R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;

R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;

5 R<sup>3</sup> es -H o -OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En dicha realización, se prefiere que R<sup>1</sup> sea -CH<sub>3</sub>. Se prefiere también en dicha realización que R<sup>1</sup> sea -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> cuando R<sup>3</sup> es -OH.

Otra realización preferida adicional de los compuestos de la presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula,



10

en la que

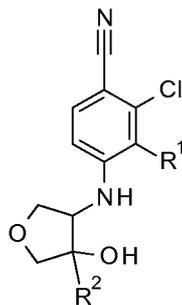
R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;

R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;

R<sup>3</sup> es -H o -OH;

15 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En dicha realización, se prefiere que R<sup>1</sup> sea -CH<sub>3</sub>. Se prefiere también en dicha realización que R<sup>1</sup> sea -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> cuando R<sup>3</sup> es -OH.

Otra realización preferida de los compuestos de la presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula,



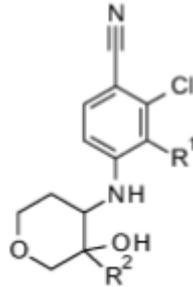
20 en la que

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;

R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En dicha realización, se prefiere que R<sup>1</sup> sea -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>-.

Una realización preferida adicional de los compuestos de la presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula,



5

en la que

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;

R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;

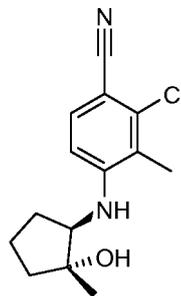
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En dicha realización, se prefiere que R<sup>1</sup> sea -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>.

10 Otra realización preferida adicional de la presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

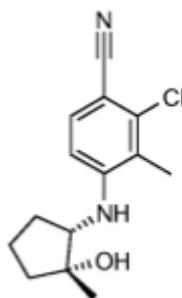
Una realización especialmente preferida de la presente invención se refiere al compuesto, 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo



15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otra realización especialmente preferida de la presente invención se refiere al compuesto, 2-cloro-4-[[[(1S,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo,



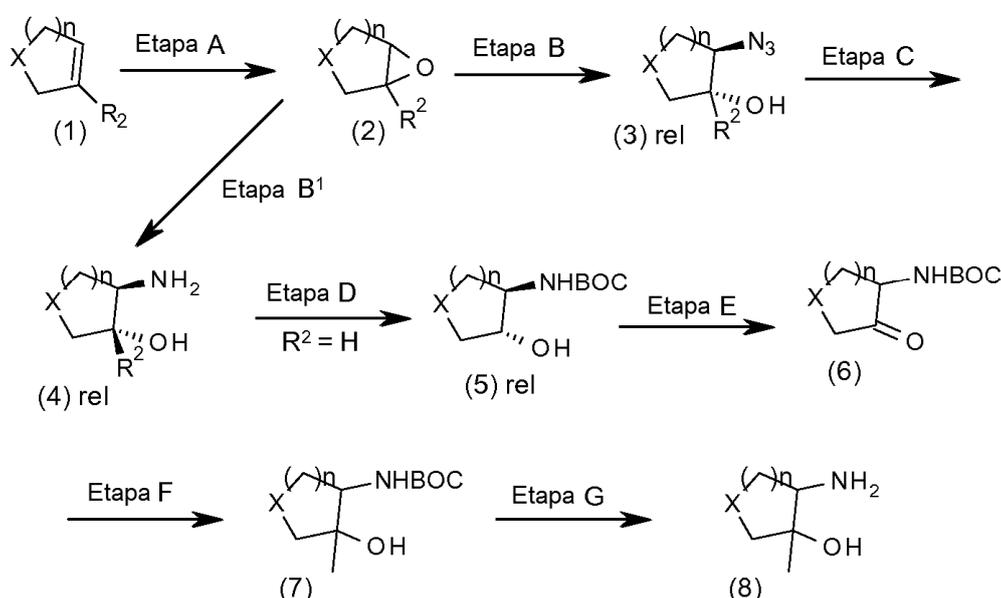
o una sal farmacéuticamente aceptable sal del mismo.

Como se usa en el presente documento, los siguientes términos tienen los significados que se indican: "abs" se refiere a absoluto; "promotor de CMV" se refiere a promotor de citomegalovirus; "Bn" se refiere a bencilo; "BOC" se refiere a *tert*-butoxicarbonilo; "CS-FBS" se refiere a suero bovino fetal tratado con carbón vegetal; "DMAC" se refiere a dimetilacetamida; "DMEM" se refiere a medio de Eagle modificado por Dulbecco; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "DMSO" se refiere a sulfóxido de dimetilo; "DTT" se refiere a ditioneitol; "EDTA" se refiere a ácido etilendiaminotetraacético; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "EtOH" se refiere a etanol; "Ej" se refiere a ejemplo; "FBS" se refiere a suero bovino fetal; "h" se refiere a hora; "HEK" se refiere a riñón humano embrionario; "HEPES" se refiere a ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetasulfónico; "IPM" se refiere a miristato de isopropilo; "LDA" se refiere a diisopropilamida de litio; "MCPBA" se refiere al ácido *meta*-cloroperoxibenzoico; "MeOH" se refiere a metanol; "MTBE" se refiere a metil *tert*-butil éter; "min" se refiere a minutos; "NCS" se refiere a *N*-clorosuccinimida; "Prep" se refiere a la preparación; "rel" se refiere a relativo; "CFS" se refiere a cromatografía de fluido supercrítico; "TBAF" se refiere a *tetra*-butilamonio; "TBDMS" se refiere a *t*-butildimetilsililo; "TBDPS" se refiere a *t*-butildifenilsililo; "TEA" se refiere a trietilamina; "TEMPO" se refiere a *N*-óxido de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "TMS" se refiere a trimetilsililo; "promotor de TK" se refieren a promotor de timidina cinasa; y "DRX" se refiere a la difracción de rayos X.

En los esquemas siguientes, todos los sustituyentes a menos que se indique lo contrario, se definen como anteriormente. Los reactivos y materiales de partida generalmente están fácilmente disponibles para un experto habitual en la técnica. Otros pueden fabricarse mediante técnicas convencionales de química orgánica y heterocíclica que son análogas a las síntesis de compuestos estructuralmente similares conocidos y los procedimientos que se describen en las Preparaciones y Ejemplos a continuación incluyendo cualquier procedimiento novedoso.

Los compuestos de la presente invención comprenden hasta tres centros quirales o más. Se reconocerá por un experto en la materia que existen técnicas comunes útiles para la separación y la identificación de diastereómeros o enantiómeros. Dichas técnicas incluyen cromatografía en gel de sílice para separar diastereómeros, cromatografía quiral para separar enantiómeros, síntesis usando materiales de partida de configuración conocida o hacer uso de técnicas de síntesis que son conocidas para proporcionar una estereoquímica definida en un centro quiral o una configuración diastereomérica relativa, tal como *cis* o *trans*.

## Esquema 1



El Esquema 1 representa la formación de aminoalcoholes de fórmula (8).

En la Etapa A, una olefina cíclica de fórmula (1) se oxidó a un epóxido de fórmula (2). La olefina (1) se trató con un agente oxidante, tal como MCPBA, en un disolvente inerte, tal como diclorometano a 0 a 40 °C durante 2 a 24 h para obtener el epóxido (2).

En la Etapa B, un epóxido de fórmula (2) se abrió para proporcionar el azido-alcohol de fórmula (3). La reacción transcurrió en una mezcla de disolventes de agua y MeOH usando una fuente de azida, tal como azida de sodio, en presencia de cloruro de amonio a una temperatura de 50 a 70 °C durante un período de 2 a 24 h. Como alternativa, la reacción puede realizarse en un disolvente tal como DMF, con o sin la adición de un ácido de Lewis, tal como perclorato de litio, de 50 a 100 °C, preferentemente a aproximadamente 90 °C durante 12 a 72 h.

En la etapa C, la azida (3) se redujo a la amina de fórmula (4), que puede hacerse reaccionar directamente con un fluoro-benzonitrilo (Esquema 5). La amina (4) puede obtenerse por hidrogenación sobre un catalizador de paladio, tal como paladio al 10 % sobre carbono, en un disolvente inerte, tal como MeOH o EtOH a aproximadamente de 10 a 40 °C.

Como alternativa, en la Etapa B<sup>1</sup>, en la que R<sup>2</sup> es metilo, la amina (4) puede obtenerse directamente a partir del epóxido (2) por reacción con hidróxido de amonio. La reacción transcurrió en un recipiente a presión, en una mezcla de disolventes de agua/EtOH de 70 a 100 °C durante aproximadamente de 2 a 18 h.

Con respecto a la amina de fórmula (4), en la que R<sup>2</sup> = H, el grupo metilo puede introducirse usando las Etapas D-G. La protección de la amina (4) con un grupo BOC en la Etapa D proporcionó un amino-alcohol protegido de fórmula (5). Las condiciones preferidas para la protección de la amina usaron dicarbonato de di-*tert*-butilo en una mezcla de disolventes de acetona y agua, en presencia de una base inorgánica tal como NaHCO<sub>3</sub>.

En el Esquema 1 Etapa E, el amino-alcohol protegido (5) se oxidó a la cetona (6). El técnico experto reconocerá que existen muchos procedimientos para efectuar una oxidación de este tipo. Las condiciones preferidas usaron la oxidación de Swern bien conocida. Por tanto, se combinaron cloruro de oxalilo y DMSO en un disolvente inerte, tal como diclorometano o THF, a una temperatura de -80 a -60 °C y se dejaron reaccionar a esa temperatura durante un período de aproximadamente 5 a 20 min para producir el intermedio reactivo cloruro de dimetilclorosulfonio. A esto le siguió la adición del alcohol (5), de nuevo a una temperatura de -80 a -60 °C con la reacción durante un período de aproximadamente 30 a 60 min. Finalmente, se añadió una base orgánica, tal como TEA a la misma temperatura. Se añadieron al menos 2 equivalentes de la base, normalmente de aproximadamente 5 a 6 eq de TEA y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 a 24 h.

Como alternativa, el alcohol (5) puede oxidarse usando condiciones de Anelli en las que se usa TEMPO catalíticamente, a una carga de catalizador de aproximadamente el 5 % en moles, en presencia de bromuro de potasio, en un sistema de disolventes bifásico de diclorometano e hipoclorito de sodio acuoso, en el que se añadieron carbonato de potasio u otra base inorgánica para ajustar la solución de hipoclorito de sodio a aproximadamente pH = 7,5-8. El TEMPO más el alcohol (5) en diclorometano se enfrió a una temperatura de -5 a 5 °C. La temperatura se mantuvo durante la adición de la solución de hipoclorito de sodio con el pH ajustado y a

través del resto de la reacción que transcurrió durante aproximadamente 20 min a 4 h para proporcionar la cetona (6).

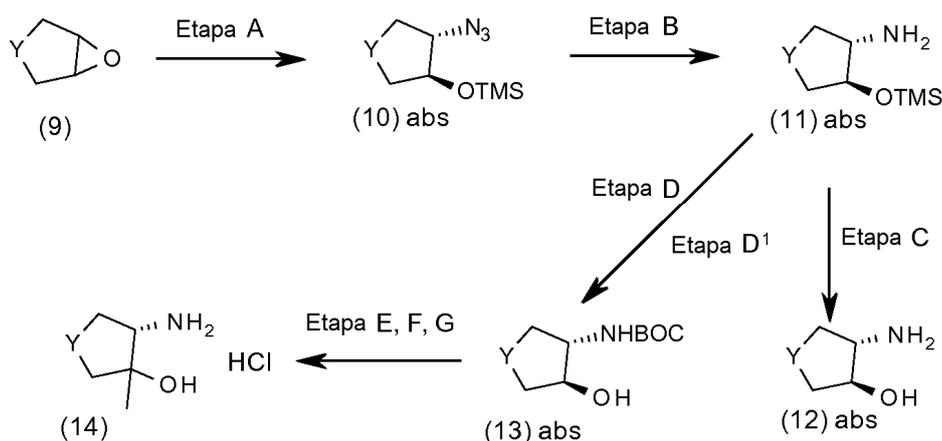
5 En la Etapa F, la cetona (6) se sometió a una reacción de Grignard con bromuro de metilmagnesio para proporcionar el alcohol terciario de fórmula (7). La reacción transcurrió en un disolvente inerte tal como dietil éter o THF. El reactivo de Grignard, bromuro de metilmagnesio, se añadió lentamente a una temperatura de -80 a 5 °C, preferentemente a una temperatura de -5 a 5 °C y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 12 a 48 h.

10 En la Etapa G, el grupo protector BOC se retiró para proporcionar la amina desprotegida de fórmula (8). Las condiciones ácidas para la eliminación de los grupos Boc, tales como HCl en dioxano, son bien conocidos en la técnica.

15 Pueden emplearse diferentes grupos protectores por un experto en la materia. Por ejemplo, la amina de fórmula (4) puede protegerse por bis-alkilación con bromuro de bencilo en un sistema de disolventes, tal como acetona/agua, en presencia de una base inorgánica, tal como carbonato de potasio y puede calentarse a 40 °C a la temperatura de reflujo del disolvente para proporcionar el análogo de dibencilamino. La oxidación a la cetona y la posterior reacción con bromuro de metilmagnesio puede proporcionar el amino-alcohol terciario. Los grupos bencilo pueden retirarse usando hidrogenación con catalizadores de Pd habituales en la técnica, tales como negro de paladio o hidróxido de paladio sobre carbono.

20 Un experto en la materia reconocerá que algunas de las aminas (4) están disponibles en el mercado en forma de estereoisómeros puros, tales como (1R,2S)-2-aminociclopentanol, obviando de este modo la necesidad de Etapas A-C.

### Esquema 2



El Esquema 2 representa la formación de aminoalcoholes de fórmula (12) y (14), en los que la quiralidad se introdujo usando la química de Jacobsen comenzando con un epóxido meso de fórmula (9) (en el que Y = CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> o O).

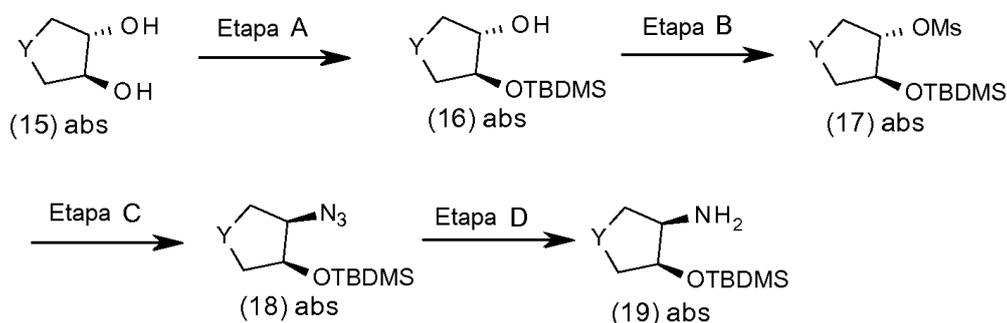
25 Por ejemplo, en la Etapa A, se sometió un epóxido meso (9) a una apertura de anillo asimétrica con azidotrimetilsilano usando un complejo de (salen)Cr(II) quiral o un complejo de (salen)Co(II) quiral, tal como (1R,2R)-(-)-1,2-ciclohexanodiamino-N,N'-bis(3,5-di-t-butilsaliciliden)cobalto (II) (véase Jacobsen, E. N. y col. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 4197-4199). La reacción se desarrolló pura a temperatura ambiente a 60 °C durante de 4 a 24 h.

30 En la Etapa B, la azida (10) se redujo a la amina de fórmula (11), como se ha descrito previamente para el Esquema 1, Etapa C. Esto puede ir seguido de la retirada del grupo TMS usando anión fluoruro, tal como con TBAF para proporcionar un aminoalcohol quiral (12).

35 Si se desea insertar el grupo metilo, entonces puede hacerse una manipulación adicional del grupo de protección con la amina protegida con un grupo BOC (Etapa D), una retirada de TMS (Etapa D') y después la elaboración al aminoalcohol de fórmula (14) siguiendo las Etapas E, F y G, que son exactamente análogas a las Etapas E, F y G en el Esquema 1.

El uso de otro complejo de salen quiral, por ejemplo (1S,2S)-(-)-1,2-ciclohexanodiamino-N,N'-bis(3,5-di-t-butilsaliciliden)cobalto (II) proporcionó acceso a moléculas con una estereoquímica opuesta a la mostrada para los productos intermedios (10) a (14). Después de la unión al benzonitrilo (Esquema 5) los diastereómeros (grupos amino e hidroxilo *cis* y *trans*) pueden separarse convenientemente usando cromatografía en gel de sílice.

## Esquema 3



El Esquema 3 representa la formación de *cis*-amino alcoholes de fórmula (19), comenzando con un diol quiral de fórmula (15) (en la que Y = CH<sub>2</sub> u O).

5 En la Etapa A, el diol (15) se hizo reaccionar con TBDMSCl (1,1 eq) en un disolvente inerte, tal como diclorometano, en presencia de una base orgánica, tal como TEA a temperatura ambiente durante de 2 a 5 días para proporcionar el sililoxi-hidroxi (16).

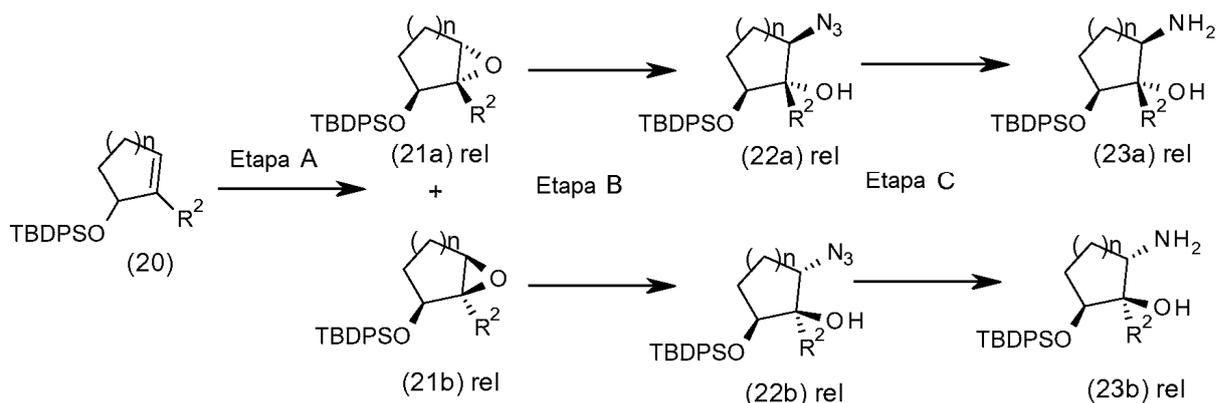
10 En la Etapa B, el otro grupo hidroxilo de (16) se mesiló usando condiciones convencionales para proporcionar el mesilato (17). La reacción transcurrió en un disolvente inerte, tal como diclorometano, en presencia de 2,6-lutidina y una base orgánica tal como trietilamina o diisopropilietilamina usando cloruro de metanosulfonilo. La reacción se realizó a -20 °C a temperatura ambiente durante de 4 a 24 h.

En el Esquema 3, Etapa C, el mesilato (17) se sometió a un desplazamiento S<sub>N</sub>2 con azida de sodio para proporcionar la sililoxi azida de fórmula (18) en la que la estereoquímica en el átomo de carbono reaccionante se había invertido. La reacción transcurrió en un disolvente inerte, tal como DMF a 60 a 130 °C durante de 2 días a 2 semanas. Puede añadirse un catalizador de transferencia de fase, tal como yoduro de tetrabutilamonio.

15 En la Etapa D, la sililoxi azida (18) se redujo a la sililoxi amina (19) usando condiciones como las que se han descrito anteriormente para el Esquema 1, Etapa C.

El uso del enantiómero de diol (15) proporcionó acceso al otro enantiómero *cis*.

## Esquema 4



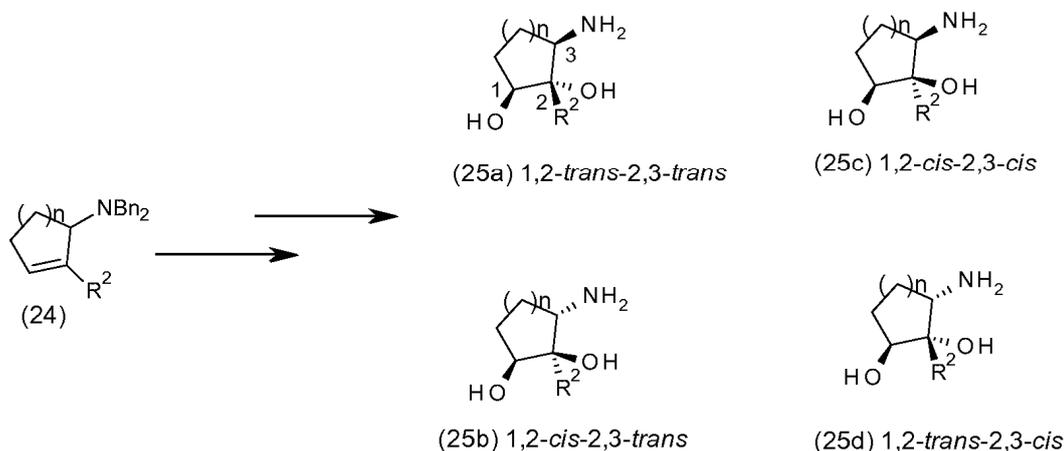
El Esquema 4 representa la formación de ciclopentil y ciclohexilamino dioles de fórmula (23a) y (23b).

20 En la Etapa A, la olefina de fórmula (20) se oxidó a los epóxidos (21a) y (21b) usando MCPBA. La reacción se realizó en un sistema bifásico de disolventes de diclorometano y bicarbonato de sodio acuoso a 0 °C a temperatura ambiente durante de 4 a 24 h. Pueden añadirse MCPBA adicional y bicarbonato de sodio acuoso si es necesario. Los epóxidos diastereoméricos se separaron mediante cromatografía y se trasladaron por separado a las Etapas B y C.

25 En la Etapa B, los epóxidos (21a) o (21b) se abrieron con azida de sodio para proporcionar los azido-alcoholes (22a) y (22 b) como se han descrito previamente para el Esquema 1, Etapa B.

En la Etapa C, la reducción de la azida (22a) o (22b) era análoga al Esquema 1, Etapa C, para proporcionar los amino-alcoholes (23a) o (23b).

### Esquema 4a

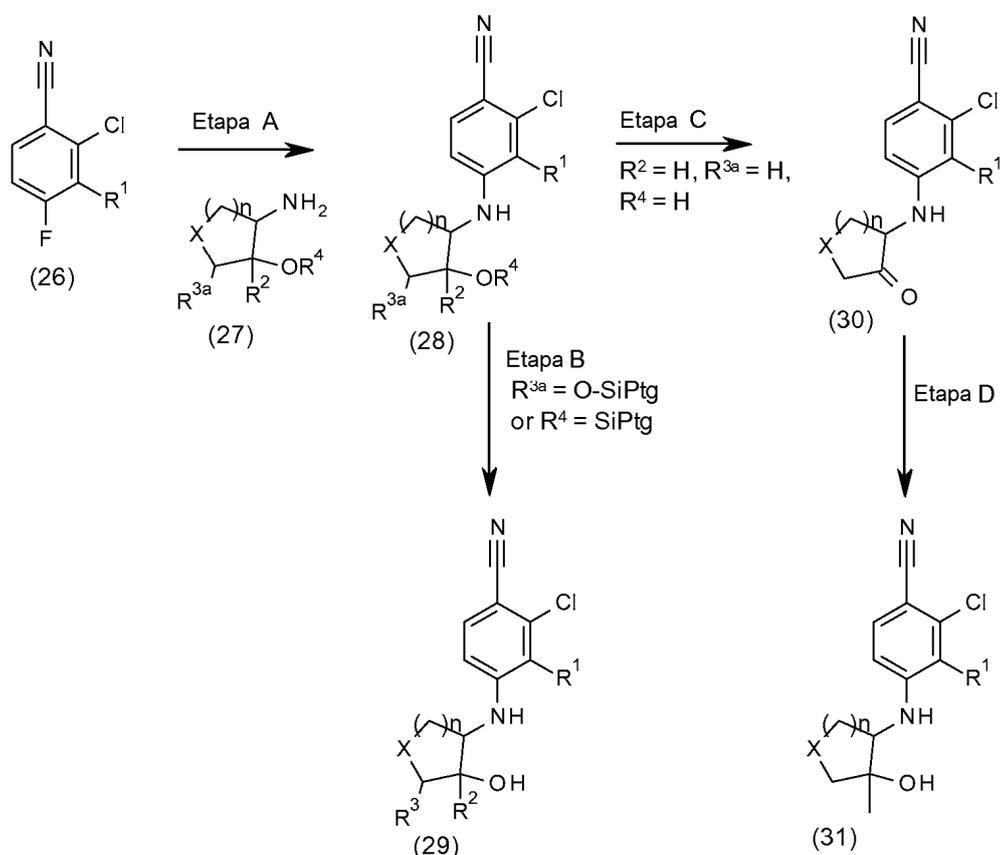


5 En el Esquema 4A se representa un procedimiento alternativo para la obtención de los cuatro diastereoisómeros de amino-dioles de fórmula (25a-d) usando la química de Davies (véase Aciro, C. y col. *Org. Biomol. Chem.* 2008, 6, 3751-3761; Aciro, C. y col. *Org. Biomol. Chem.* 2008, 6, 3762-3770; Bond, C. W. y col. *J. Org. Chem.* 2009, 74, 6735-6748), en particular los de (25c) y (25d) en los que la amina y el hidroxilo adyacentes son *cis* entre sí.

10 Puede obtenerse amina dibencil alílica (24) a partir de ciclohexeno mediante bromación, seguida de desplazamiento con bromuro de dibencilamina (véase Davies). Como alternativa, el desplazamiento puede hacerse con bencilamina seguida de bencilación de la amina bencil alílica con bromuro de bencilo. Como alternativa, la amina dibencil alílica (24) podría obtenerse directamente mediante la aminación reductora en la cetona correspondiente con dibencilamina o bencilamina, seguida de bencilación con bromuro de bencilo. La amina dibencil alílica de fórmula (24), en la que  $R^2 = \text{Me}$ , puede obtenerse tratando 2-metil-2-ciclopenten-1-ol o 2-metil-2-ciclohexeno-1-ol con NCS y sulfuro de dimetilo para proporcionar 5-cloro-1-metil-ciclopenteno o el ciclohexeno correspondiente (véase Funk, R. L. y col. *Tetrahedron* 1985, 41, 3479-3495, compuesto 46b). Se aplicó la misma química de desplazamiento que se ha descrito anteriormente. Un experto en la materia reconocerá que el cloruro también podría obtenerse mediante el tratamiento del alcohol con cloruro de tionilo.

20 El técnico experto reconocerá que existen otras metodologías disponibles en la bibliografía que pueden aplicarse para obtener los diastereómeros (25a-d). Por ejemplo, a partir de la acetamida análoga (en lugar de la dibencilamina), Whitten y compañeros de trabajo (véase Whitten, J. P., McCarthy, J. R. y Whalon, R. M. *J. Org. Chem.* 1985, 50, 4399-4402) obtuvieron los cuatro diastereómeros (en los que  $n = 1$ ,  $R^2 = \text{H}$ ). Además, Donohoe y compañeros de trabajo (Blades, K., Donohoe, T. J., Winter, J. J. G. y Stemp, G. *Tetrahedron Lett.*, 2000, 41, 4701-4704), usando la tricloroacetamida alílica análoga, consiguieron la selectividad *syn* usando tetraóxido de osmio catalítico en presencia de N-óxido de quinuclidina.

## Esquema 5



El Esquema 5 muestra la formación de compuestos de la invención, amino benzonitrilos de fórmula (29) y (31) (estereoquímica no mostrada;  $R^{3a}$  es H o si  $X = CH_2$ ,  $R^{3a}$  también puede ser OTBDPS;  $R^4 = H$  o TBDMS).

5 En la Etapa A, un fluoro-benzonitrilo de fórmula (26) se sometió a una sustitución aromática nucleófila con una amina de fórmula (27), cuya síntesis se describe en los Esquemas 1-4a. La reacción transcurrió en un disolvente inerte tal como DMF, DMAC o DMSO, preferentemente en una mezcla de disolventes de DMSO/agua en una proporción de 7/1 a 10/1, en presencia de una base inorgánica, preferentemente carbonato de litio, pero también carbonato de sodio. La reacción se realizó en un vaso a presión a 100 a 150 °C, preferentemente aproximadamente 130 °C durante de 16 a 48 h. Como alternativa, la reacción puede realizarse satisfactoriamente usando radiación de microondas, usando simplemente una base orgánica, tal como diisopropilamina sin disolvente adicional, a una temperatura de 170 a 190 °C, preferentemente a 180 °C, para proporcionar un amino benzonitrilo de fórmula (28).

10 En la Etapa B, se desprotegeron amino benzonitrilos (28) que contenían un grupo protector sililo ( $R^{3a}$  o  $R^4$ ) usando anión fluoruro, tal como con TBAF, como se ha descrito para el Esquema 2, Etapa C.

15 Si se desea, pueden elaborarse adicionalmente compuestos de fórmula (28), en los que  $R^2 = R^4 = H$  para los compuestos (31) (en los que  $R^2 = CH_3$ ) empleando las Etapas C y D. En la Etapa C, el hidroxilo del amino benzonitrilo (28) se oxidó al  $\alpha$ -ceto amino benzonitrilo (30) usando condiciones de Swern como se ha descrito previamente para el Esquema 1, Etapa E.

20 En la Etapa D, el  $\alpha$ -ceto amino benzonitrilo (30) sufrió una reacción de Grignard con bromuro de metilmagnesio para proporcionar el  $\alpha$ -metil- $\alpha$ -hidroxi amino benzonitrilo de fórmula (31). La reacción transcurrió en un disolvente inerte, tal como THF, a 0 °C a temperatura ambiente, durante un período de 15 min - 24 h.

25 El 2-cloro-3-alkil-4-fluoro-benzonitrilo de fórmula (26), en el que  $R^1 = CH_3$  o  $CH_2CH_3$ , se sintetizó en una etapa a partir de 2-cloro-4-fluoro-benzonitrilo usando una base orgánica fuerte tal como LDA, que puede generarse *in situ* usando diisopropilamina y n-butil-litio. El LDA se añadió gota a gota al benzonitrilo en un disolvente tal como THF, a una temperatura de -80 a -60 °C, preferentemente a -70 °C, durante un período de 4 a 20 h. Se añadieron yodometano o yodoetano a la misma temperatura, durante aproximadamente de 2 a 3 h y se permitió que la temperatura se elevara a -10 a 5 °C durante aproximadamente de 12 a 24 h.

Los diastereoisómeros o enantiómeros de los amino benzonitrilos (29) y (31) pueden separarse mediante técnicas tales como cromatografía en gel de sílice o cromatografía quiral.

### Preparaciones y Ejemplos

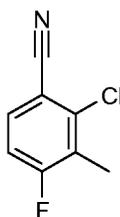
5 Las siguientes Preparaciones y Ejemplos ilustran adicionalmente la invención y representan una síntesis habitual del compuesto de la invención. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles o pueden sintetizarse fácilmente por un experto habitual en la materia. Debe entenderse que las Preparaciones y Ejemplos se exponen a modo de ilustración y no de limitación y que pueden hacerse diversas modificaciones por un experto habitual en la materia.

10 La nomenclatura de los siguientes Preparaciones y Ejemplos generalmente se realiza usando la función de nomenclatura IUPAC en SYMYX® Draw versión 3.2.NET.

15 Los dibujos en los que se conoce la estereoquímica absoluta están etiquetados como "absoluto". Los dibujos en los que solo se conoce la relación *cis* o *trans* entre los grupos amino e hidroxilo están etiquetados como "relativo" y el dibujo correspondiente indica la estereoquímica relativa usando enlaces en cuña. En cuanto a la designación estereoquímica, la relación diastereomérica en el anillo monocíclico generalmente se indica usando la nomenclatura *cis/trans*. La relación diastereomérica en los pocos compuestos que tienen tres centros quirales en el anillo monocíclico se designan, por ejemplo, por *rel*-(1R,2S,3S), que indica que el isómero (1R,2S,3S) y el isómero (1S,2R,3R) están los dos presentes en la mezcla diastereomérica.

#### Preparación 1

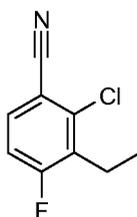
2-Cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo



20 A una solución de diisopropilamina (474 ml, 3,35 mol) en THF anhidro (5,8 l) a -5 °C en atmósfera de nitrógeno se le añadió gota a gota n-butil-litio 2,5 M en hexanos (1,24 l, 3,10 mol) durante 3 h y la mezcla resultante se agitó a -5 °C durante una hora adicional. La solución de LDA se añadió gota a gota a una solución de 2-cloro-4-fluoro-benzonitrilo (400 g, 2,58 mol) en THF anhidro (5,8 l) a -70 °C durante 6 h y después se agitó a -70 °C durante la noche. Se añadió yodometano (643 ml, 10,32 mol) gota a gota durante 2,5 h y se elevó la temperatura a -5 °C durante 17 h. Se añadió cloruro de amonio acuoso saturado (3 l). La solución se diluyó con agua (3,5 l) y se extrajo con éter dietílico (2 l, 2 veces). Las fases orgánicas se separaron, se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para proporcionar un sólido de color negro. El sólido se purificó a través de un lecho de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexanos (1/40) para obtener el compuesto del título (323 g, 74 %). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,08 (dd, J = 8,6, 8,6 Hz, 1H), 7,54 (dd, J = 8,6, 5,6 Hz, 1H), 2,36 (d, J = 2,4 Hz, 3H).

#### Preparación 2

2-cloro-3-etil-4-fluoro-benzonitrilo



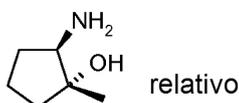
35 El compuesto del título se preparó esencialmente siguiendo el procedimiento descrito en la Preparación 1, usando 2-cloro-4-fluoro-benzonitrilo (12,2 g, 78,4 mmol) y yodoetano (18,4 g, 9,43 ml, 118 mmol). El producto en bruto se purificó en gel de sílice usando diclorometano al 15-50 %/hexanos para proporcionar el compuesto del título en forma de cristales de color blanco brillante (4,06 g, 28 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,54 (dd, J = 5,6, 8,6 Hz, 1H), 7,07 (t, J = 8,6 Hz, 1H), 2,85 (cd, J = 7,5, 2,3 Hz, 2H), 1,19 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

**Preparación 3**

1-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano



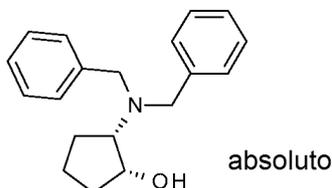
5 Una solución de 1-metilciclopenteno (25 ml, 0,24 mol) en diclorometano (770 ml) se enfrió a 5 °C en atmósfera de nitrógeno. Se añadió MCPBA (87,5 g, 0,36 mol, 1,5 eq, 71 % en peso) en porciones y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas. El filtrado se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (500 ml) y tiosulfato de sodio acuoso al 10 % (100 ml). La porción orgánica se concentró a presión reducida mientras se mantenía la temperatura del baño de agua por debajo de 20 °C para obtener el compuesto del título (24 g, 99 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3,42 (s, 1H), 1,81-1,99 (m, 2H), 1,38-1,65 (m, 4H), 1,42 (s, 3H). CG-EM m/z 98 (M<sup>+</sup>).

**Preparación 4***trans*-2-Amino-1-metil-ciclopentanol

15 En un vaso a presión de vidrio, una solución de 1-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano (25 g, 0,25 mol), hidróxido de amonio (50 ml, 0,36 mmol), agua (50 ml) y etanol (100 ml) se calentó a 90 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se coevaporó dos veces con isopropanol (100 ml) para obtener el compuesto del título (28,4 g) que tenía una pureza de hasta el 45 % por RMN. CG-EM m/z 115 (M<sup>+</sup>). El material en bruto se usó en la siguiente etapa (Ejemplo 1) sin purificación adicional.

**Preparación 5**

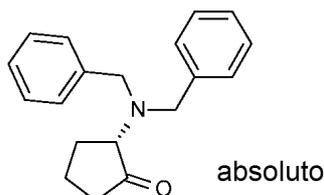
(1R,2S)-2-(Dibencilamino)ciclopentanol



25 A una solución de (1R,2S)-2-aminociclopentanol (9,3 g, 67,6 mmol) y carbonato de potasio (28,02 g, 203 mmol) en acetona (675 ml) y agua (48 ml) se le añadió bromuro de bencilo (16,1 ml, 135 mmol) en una sola porción y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Se retiró el calor y la reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con solución acuosa de HCl 1 M y se lavó con éter. La fase acuosa se hizo alcalina con hidróxido de sodio y se extrajo con EtOAc. La porción orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (16,98 g, 89 %). EN/EM m/z 282 (M+1).

**Preparación 6**

(2S)-2-(Dibencilamino)ciclopentanona

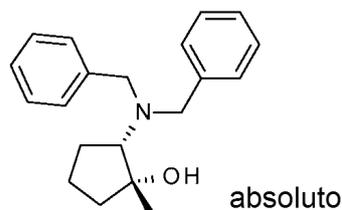


35 A una solución de cloruro de oxalilo (6,28 ml, 72,4 mmol) en diclorometano (75 ml) a -60 °C en atmósfera de nitrógeno se le añadió una solución de DMSO (10,7 ml, 151 mmol) en diclorometano (75 ml gota a gota) y se agitaron a -60 °C durante 15 min. Se añadió (1R,2S)-2-(dibencilamino)ciclopentanol (17,0 g, 60 mmol) en diclorometano (75 ml) y la reacción se agitó a -60 °C durante 30 min. Se añadió TEA (46 ml, 330 mmol) y la reacción

se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se añadió agua (100 ml) y la reacción se agitó durante la noche. La fase de diclorometano se separó, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color naranja (13,96 g, 83 %). EN/EM m/z 280 (M+1).

## 5 Preparación 7

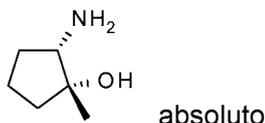
(1R,2S)-2-(Dibencilamino)-1-metil-ciclopentanol (enantioenriquecido)



A una solución de (2S)-2-(dibencilamino)ciclopentanona (8,31 g, 29,7 mmol) en éter dietílico (149 ml) a -78 °C se le añadió bromuro de metil magnesio (29,7 ml, 89,1 mmol, 3 M en éter dietílico) lentamente. La mezcla se agitó a -78 °C durante 4 h y después la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Se añadió agua a la reacción, dando como resultado una emulsión. Se añadió ácido clorhídrico acuoso 1 M para romper la emulsión mientras se mantenía la fase acuosa básica. La fase acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 10 %/Hexanos) para obtener el producto. El material se disolvió en ácido clorhídrico 1 M y se extrajo cuatro veces con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (3,49 g, 40 %). EN/EM m/z 296 (M+1).

## Preparación 8

(1R,2S)-2-Amino-1-metil-ciclopentanol (enantioenriquecido)



Se combinaron negro de paladio (1,617 g), MeOH (150 ml) y (1R,2S)-2-(dibencilamino)-1-metil-ciclopentanol (3,49 g, 11,8 mmol) en un frasco de Parr y se hidrogenaron a temperatura ambiente durante la noche a 50-60 psi (344,74-413,69 kPa). No se observó ningún cambio por EN/EM y se añadió negro de paladio adicional (0,51 g) y la hidrogenación continuó durante 6 horas a 30 °C/60 psi (413,69 kPa). No hubo ningún cambio aparente. La reacción se filtró y se volvió a someter a hidrogenación con negro de paladio recién preparado (1,04 g) en MeOH. Después de 20 h, el EN/EM todavía mostraba material de partida y no se observaba ningún producto. La mezcla se filtró y se concentró. El material se volvió a enviar a hidrogenación en MeOH (100 ml) usando negro de paladio (1,02 g) durante 24 horas a 30 °C/60 psi (413,69 kPa). No hubo ningún cambio en el progreso de la reacción. La hidrogenación continuó con calentamiento a 60 °C a 45-60 psi (310-26-413,69 kPa) durante aproximadamente 52 h. Todavía había material de partida presente por CG-EM. La mezcla se filtró y se concentró. El material resultante se volvió a someter a hidrogenación usando negro de paladio (1,57 g) en MeOH (100 ml) a 30 °C/60 psi (413,69 kPa) durante 24 h. El análisis por EN/EM proporcionó pruebas de la eliminación de un grupo bencilo con una pequeña cantidad de material de partida todavía presente. Se añadió hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (0,41 g) y la hidrogenación continuó a 30 °C/60 psi (413,69 kPa) durante 20 h. El análisis por EN/EM no mostró material de partida, pero tampoco se observó ningún pico de producto. La mezcla de reacción se filtró y se concentró. El material resultante se volvió a someter a hidrogenación usando negro de paladio recién preparado (1,20 g) en MeOH (100 ml) a 30 °C/60 psi (413,69 kPa) durante 23 h. El análisis por EN/EM todavía no mostró ninguna formación de producto. La hidrogenación continuó con calentamiento a 40 °C durante 24 h. No hubo ningún cambio en el EN/EM. Se añadió hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (2,05 g) y la hidrogenación continuó a temperatura ambiente/60 psi (413,69 kPa) durante 67 h. La reacción se filtró y se concentró. (Una pequeña alícuota (74 mg) se hidrógenó con óxido de rutenio (IV) (104 mg) en *t*-butanol (25 ml) a 60 °C/60 psi (413,69 kPa) durante la noche. Esto dio como resultado la reducción del anillo de benceno sin desprotección como se muestra por EN/EM). El material resultante se volvió a someter a hidrogenación usando hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (1,01 g) en MeOH (100 ml) a 40 °C/50-60 psi (344,74-413,69 kPa) durante 21 h. En el análisis por EN/EM hubo una pequeña cantidad de producto a 116 (M+1) y un pico significativo a 206 (M+1) para el intermedio mono-bencilado. Se añadió negro de paladio (1,01 g) y la hidrogenación continuó a 30 °C/60 psi (413,69 kPa) durante 23 h. El análisis por EN/EM no mostró ningún material de partida o intermedio con el pico 116 (M+1) y una posible impureza a 158. Se filtró la mezcla de reacción a través de tierra de diatomeas y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título en bruto en forma de un aceite de color castaño (1,61 g, cuantitativo). El material se usó sin

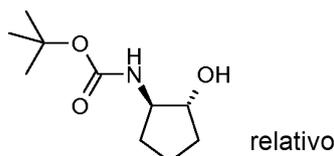
purificación adicional en la siguiente etapa (Ejemplo 2) y más tarde se descubrió que estaba racemizado parcialmente. EN/EM m/z 116 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,84-7,85 (m, 1H), 5,11 (s, 1H), 3,03-3,05 (m, 1H), 1,92-1,94 (m, 1H), 1,75-1,76 (m, 1H), 1,49-1,51 (m, 1H), 1,21 (s, 3H).

#### Preparación alternativa 1 de 2-amino-1-metil-ciclopentanol

5 (Preparaciones 9-12)

#### Preparación 9

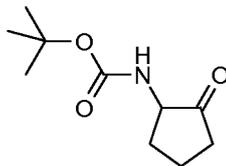
N-[2-Hidroxiciclopentil]carbamato de *trans-terc*-butilo



10 A una solución de clorhidrato de *trans*-2-aminociclopentanol (100 g, 726,7 mmol), en MeOH (1,45 l) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, se el añadieron carbonato de sodio (77 g, 726,7 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (182 ml, 835,7 mmol). La mezcla se agitó durante la noche. La mezcla se filtró sobre un filtro de papel y se evaporó el metanol. El residuo resultante se diluyó con agua y se agitó durante 30 min para proporcionar un sólido de color blanco que se recogió por filtración. El sólido se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color crema pálido (172,4 g, 89 %). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 6,72 (d, 1H, NH), 4,61 (s a, 1H), 3,76 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 1,66-1,96 (m, 2H), 1,48-1,64 (m, 2H), 1,21-1,44 (m, 2H), 1,38 (s, 9H).

#### Preparación 10

N-(2-Oxociclopentil)carbamato de *terc*-butilo

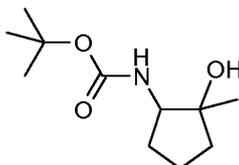


20 Se añadieron N-óxido de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (2,2 g, 14,2 mmol) y bromuro de potasio (8,5 g, 71 mmol) a una solución de N-[2-hidroxiciclopentil]carbamato de *trans-terc*-butilo (75 g, 283 mmol) en diclorometano (285 ml). La mezcla se enfrió a 5 °C con agitación. Una solución acuosa de hipoclorito de sodio (766 ml, 566 mmol, pH ajustado a 7,5-8 mediante la adición de 10 g de carbonato de potasio sólido) recién preparada enfriada con hielo (5 °C) se añadió con agitación a la mezcla de reacción, manteniendo la temperatura por debajo 5 °C. La mezcla se agitó a 5 °C durante 30 min adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con solución de cloruro de sodio acuoso saturado (150 ml). La fase orgánica se separó y se evaporó. El residuo de color rojo oleoso se purificó sobre un lecho de gel de sílice, eluyendo con EtOAc/hexanos (1/3) para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color crema (43 g, 76 %). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 6,99 (d, 1H, NH), 3,76 (c, 1H), 1,63-2,31 (m, 6H), 1,37 (s, 9H).

#### Preparación 11

2-[Hidroxi-2-metil-ciclopentil]carbamato de *terc*-butilo

30

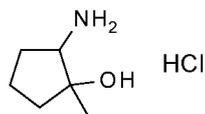


35

Una solución de N-(2-oxociclopentil)carbamato de *terc*-butilo (racémico) (25 g, 125,5 mmol) en éter dietílico (250 ml) se enfrió a -5 °C. Se añadió bromuro de metilmagnesio (125 ml, 375 mmol, 3 M en éter dietílico), manteniendo la temperatura a 0 °C. La reacción se agitó vigorosamente y se calentó a 22 °C durante 2 h y después se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a 5 °C y se inactivó mediante la adición de una solución de cloruro de amonio (150 ml) saturada enfriada (5 °C). La mezcla se calentó a temperatura ambiente. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con MTBE (150 ml, 3 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del título (26,4 g, 78 %) en forma de material en bruto que se usó sin purificación adicional.

**Preparación 12**

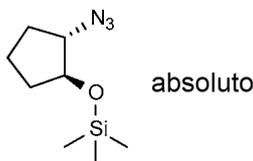
2-Amino-1-metil-ciclopentanol, clorhidrato



5 A una solución de 2-hidroxi-2-metil-ciclopentilcarbamato de *terc*-butilo (25 g, 104,5 mmol) en diclorometano (210 ml) se le añadió cloruro de hidrógeno en dioxano (156 ml, 6 mol, 4 M) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se evaporó y el material resultante se secó al vacío hasta un peso constante para obtener el compuesto del título (20,4 g) en forma de un aceite de color marrón oscuro que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CG-EM 115,1 (M+); el análisis por CG-EM mostró una mezcla *cis/trans* en una relación de aproximadamente 3/2.

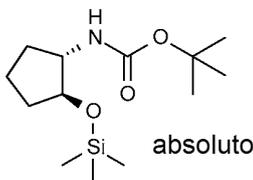
10 **Segunda preparación alternativa de 2-amino-1-metil-ciclopentanol**

(Preparaciones 13-18)

**Preparación 13**[(1*S*,2*S*)-2-Azidociclopentoxi]trimetilsilano

15 Se trató *cis*-1,2-epoxiciclopentano (11,0 g, 131 mmol) con (1*R*,2*R*)-(-)-1,2-ciclohexanodiamino-*N,N'*-bis(3,5-di-*t*-butilsaliciliden)cobalto (II) (1,58 g, 2,62 mmol). La mezcla se agitó durante 5 min a temperatura ambiente, se trató con azidotrimetilsilano (20,9 ml, 18,1 g, 157 mmol) y se calentó a 50 °C durante 16 h. La reacción se diluyó con EtOAc, hexanos y éter dietílico, seguido de la adición de tierra de diatomeas. La mezcla se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas que después se aclaró con éter dietílico y hexanos. El filtrado se concentró para proporcionar el producto en bruto en forma de un aceite de color negro. El material en bruto se purificó en gel de sílice (660 g, EtOAc al 0-2 %/hexanos, observado en la CCF con tinción de KMnO<sub>4</sub>) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido 15,98 g (61 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4,00-3,96 (m, 1H), 3,65-3,61 (m, 1H), 2,05-1,99 (m, 1H), 1,93-1,89 (m, 1H), 1,80-1,75 (m, 2H), 1,58-1,53 (m, 2H), 0,13 (s, 9H).

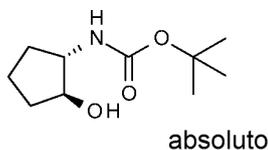
20

**Preparación 14**25 *N*-[(1*S*,2*S*)-2-Trimetilsililoxi]ciclopentil]carbamato de *terc*-butilo

Una solución de [(1*S*,2*S*)-2-azidociclopentoxi]-trimetil-silano (15,4 g, 77,6 mmol) en EtOH (141 ml) se trató con paladio al 10 % sobre carbono (1,82 g, 1,71 mmol) y se hidrogenó (60 psi (413,69 kPa)) durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de tierra de diatomeas y se aclaró con EtOH (50 ml). El filtrado se concentró al vacío y se disolvió en acetona (81 ml). Se añadieron agua (81 ml) y carbonato de sodio (8,17 g, 77,1 mmol). La mezcla se enfrió a 0 °C y después se trató con dicarbonato de di-*t*-butilo (18,6 g, 85,3 mmol). La reacción se agitó durante 72 h a temperatura ambiente y después se concentró al vacío para retirar la acetona. La mezcla se extrajo con EtOAc (150 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (15,5 g, 73 %). CG-EM *m/z* 156 (M-NHBoc)<sup>+</sup>, 202 (M-Si(Me<sub>3</sub>))<sup>+</sup>.

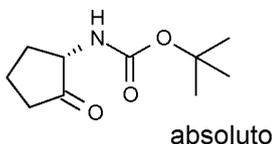
30

35

**Preparación 15**N-[(1S,2S)-2-Hidroxiciclopentil]carbamato de *tert*-butilo

5 Se agitaron N-[(1S,2S)-2-Trimetilsiloxiciclopentil]carbamato de *tert*-butilo (15,5 g, 56,7 mmol) y fluoruro de tetrabutilamonio (85,0 ml, 85,0 mmol) en THF (113 ml) a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió agua (50 ml) y la mezcla se concentró al vacío para retirar el THF. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (75 ml, 3 veces). Las porciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml, 2 veces), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar 14,7 g de producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo. El material se purificó en gel de sílice (330 g) usando EtOAc al 25%/hexanos para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (10,25 g, 90%). CL-EN/EM m/z 224 (M+Na).

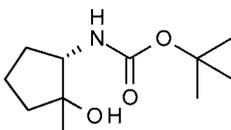
10

**Preparación 16**N-[(1S)-2-Oxociclopentil]carbamato de *tert*-butilo

15 Una mezcla de cloruro de oxalilo (6,47 ml, 74,5 mmol) en THF (166 ml) se enfrió a -72 °C en atmósfera de nitrógeno y se trató gota a gota con DMSO (10,59 ml, 149,1 mmol). La mezcla se agitó durante 5 min, después de lo cual se añadió (1S,2S)-2-hidroxiciclopentilcarbamato de *tert*-butilo (10,0 g, 49,7 mmol). La agitación continuó a -75 °C durante 45 min. Se añadió trietilamina (37,4 ml, 268,3 mmol) lentamente manteniendo la temperatura por debajo de -68 °C. Después de que la adición fuera completa la reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se combinó con la mezcla de reacción de una reacción piloto (escala de 200 mg) completada antes. Se añadió agua (100 ml) y la reacción se concentró al vacío para retirar el THF. La mezcla se extrajo con EtOAc (150 ml, 3 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar 12,41 g de producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo. El material se purificó en gel de sílice (330 g, EtOAc al 10-40%/hexanos) para proporcionar el compuesto del título (9,17 g, 93%). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,04-5,02 (m, 1H), 3,98-3,96 (m, 1H), 2,65-2,63 (m, 1H), 2,44-2,39 (m, 1H), 2,21-2,11 (m, 1H), 2,04 (s, 1H), 1,89-1,85 (m, 1H), 1,66-1,59 (m, 1H), 1,44 (s, 9H). CG-EM m/z 199 (M+). [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +96,9 (c 1,0, CHCl<sub>3</sub>) [bibliografía (Aube, J.; Wolfe, M. S.; Yantiss, R. K.; Cook, S. M.; Takusagawa, F. *Synthetic Communications* 1992, 22, 3003-3012) [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +125 (c 0,2, CHCl<sub>3</sub>)].

20

25

**Preparación 17**N-[(1S)-2-Hidroxi-2-metil-ciclopentil]carbamato de *tert*-butilo

A una solución de N-[(1S)-2-oxociclopentil]carbamato de *tert*-butilo (9,04 g, 45,4 mmol) en dietil éter (227 ml) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno se le añadió bromuro de metilmagnesio (37,8 ml, 113,4 mmol, 3,0 M en éter dietílico) gota a gota. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se trató una alícuota y se analizó mediante RMN para demostrar que la reacción parecía completa. La reacción se interrumpió cuidadosamente con cloruro de amonio acuoso saturado (10 ml) y agua (100 ml). Se añadieron EtOAc (200 ml) y HCl 1 N (50 ml) para disolver un precipitado de color blanco. Las fases se separaron y la porción acuosa se extrajo con EtOAc (200 ml, 2 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar un aceite de color amarillo (9,48 g). El análisis por CG-EM y RMN mostró aproximadamente que todavía quedaba el 20 % de material de partida. El material (7,25 g) se disolvió de nuevo en éter dietílico (227 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió bromuro de metilmagnesio (13,2 ml, 39,5 mmol) en porciones, manteniendo la temperatura por debajo de 7 °C. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se añadió en porciones otra porción de bromuro de metilmagnesio (15,1 ml, 45,4 mmol). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante la noche momento en el que el análisis por CG-EM mostró un 5 % de material de partida restante. La reacción se interrumpió cuidadosamente con cloruro de amonio acuoso saturado (20 ml). Se añadieron agua

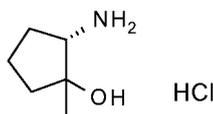
35

40

(200 ml) y HCl 5 N (20 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (300 ml, 3 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar un aceite de color ámbar oscuro (6,97 g). CG-EM m/z 158 (M-rBu)<sup>+</sup>. El análisis por CG-EM mostró una mezcla cis/trans en una relación 68:32. Se usó tal cual sin purificación adicional.

### 5 Preparación 18

Clorhidrato de (2S)-2-amino-1-metil-ciclopentanol

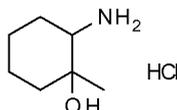


10 Una solución de N-[(1S)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]carbamato de *terc*-butilo (mezcla de diastereómeros cis y trans) (6,66 g, 30,9 mmol), HCl 4 M en dioxano (46,4 ml, 185,6 mmol) y diclorometano (62 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se concentró al vacío y después se volvió a disolver en MeOH y se volvió a concentrar para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color marrón (5,09 g). LC-EN/EM m/z 116 (M+1).

### Preparación 19

2-Amino-1-metil-ciclohexanol, clorhidrato

15



20 Se añadió bromuro de metil magnesio (4,7 ml, 14,1 mmol, 3 M en éter dietílico) gota a gota a una solución en agitación de 2-oxo-ciclohexilcarbamato de *terc*-butilo (1,00 g, 4,69 mmol) en éter dietílico (50 ml) a -78 °C. Después de que la adición fuera completa, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 22 h. La reacción se interrumpió con ácido clorhídrico diluido y se extrajo dos veces con EtOAc. Las porciones orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título en bruto (1,02 g) en forma de una mezcla probable de N-(2-hidroxi-2-metil-ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo, EN-EM m/z 252 (M+Na) y el compuesto ciclado, 7a-metil-3,3a,4,5,6,7-hexahidro-1,3-benzoxazol-2-ona. EN-EM m/z 156 (M+1). El material en bruto se usó tal cual sin purificación adicional.

25 El material se disolvió en 1,4-dioxano (15 ml) y se trató con ácido clorhídrico 12 M (1,1 ml) con agitación a temperatura ambiente durante 3 días. La reacción se concentró al vacío, se diluyó con MeOH y se volvió a concentrar y se secó al vacío para producir el compuesto del título (730 mg, 94 % para 2 etapas). EN-EM m/z 130,1 (M+1).

### Preparación 20

3,6-Dihidro-2H-pirano

30

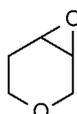


35 Se agitaron 4-bromotetrahidropirano (20 g, 121 mmol) e hidróxido de sodio 5 N (30 ml) y se calentaron a 90 °C durante 18 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y la fase orgánica se separó de la fase acuosa. La fase orgánica, que contenía solo el producto, se vertió en un matraz previamente pesado que contenía sulfato de sodio para el secado, lo que produjo el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido (9,99 g, 98 %). El compuesto del título se almacenó sobre sulfato de sodio ya que la volatilidad impide cualquier filtrado, aclarado y concentración al vacío. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 5,78-5,74 (m, 1H), 5,69-5,66 (m, 1H), 3,96-3,94 (m, 2H), 3,61 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 2,01-1,99 (m, 2H).

### Preparación 21

4,7-Dioxabicyclo[4.1.0]heptano

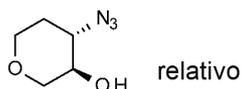
40



5 Se añadió MCPBA (29,28 g, 130,6 mmol, 77 % peso/peso) a una solución de 3,6-dihidro-2H-pirano (9,99 g, 118,8 mmol) en diclorometano (100 ml) a 0 °C y se agitaron durante 1 h antes de dejar que se calentaran a temperatura ambiente y se agitaron durante 18 h. Se añadió cuidadosamente una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla se agitó vigorosamente. La fase orgánica se separó de la fase acuosa, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (9,7 g, 82 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3,84 (dd, J = 2,7, 13,4 Hz, 1H), 3,74-3,70 (m, 1H), 3,38-3,26 (m, 3H), 3,10-3,09 (m, 1H), 1,87-1,82 (m, 2H).

### Preparación 22

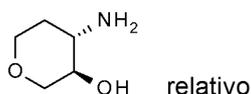
*trans*-4-Azidotetrahidropiran-3-ol



15 Se añadió azida de sodio (50,4 g, 775 mmol) a una solución en agitación de 4,7-dioxabicyclo[4.1.0]heptano (9,7 g, 96,9 mmol) y cloruro de amonio (23,0 g, 426 mmol) en metanol (484 ml) y agua (97 ml) y se calentaron a 65 °C en atmósfera de nitrógeno durante 18 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió agua (200 ml). El metanol se retiró al vacío y la fase acuosa restante se extrajo con EtOAc (3 veces). Las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título en forma de un aceite de color castaño (5,63 g, 41 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 5,40-5,33 (m, 1H), 3,78-3,74 (m, 2H), 3,40-3,32 (m, 3H), 2,97-2,90 (m, 1H), 1,82 -1,77 (m, 1H), 1,46-1,41 (m, 1H).

### Preparación 23

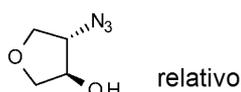
*trans*-4-Aminotetrahidropirano-3-ol



Una mezcla de *trans*-4-azidotetrahidropiran-3-ol (5,63 g, 39,3 mmol) y Pd al 10 %/C (2,09 g, 1,97 mmol) en metanol (157 ml) se hidrogenó (45 psi (310,26 kPa)) a temperatura ambiente durante 18 h. Después de filtrar la mezcla a través de tierra de diatomeas, el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el producto del título en forma de un semisólido de color castaño (4,8 g, cuantitativo). EN-EM m/z 118,1 (M+1).

### Preparación 24

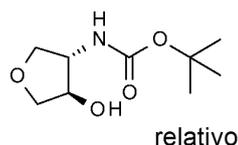
*trans*-4-Azidotetrahidrofuran-3-ol



30 El compuesto del título se preparó esencialmente siguiendo el procedimiento descrito para la Preparación 22, usando 3,4-epoxitetrahidrofurano. El producto en bruto se obtuvo en forma de un aceite de color amarillo pálido (10,5 g). CG-EM m/z 129 (M<sup>+</sup>).

### Preparación 25

N-[4-hidroxitetrahidrofuran-3-il]carbamato de *trans-terc*-butilo

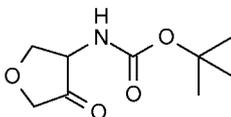


40 Una solución de *trans*-4-azidotetrahidrofuran-3-ol (9,55 g, 74,0 mmol) en etanol (247 ml) se trató con paladio al 10 % sobre carbono (787 mg, 0,370 mmol) y se agitó durante 16 h a temperatura ambiente a 60 psi (413,69 kPa) de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de tierra de diatomeas y se aclaró con EtOH (100 ml). El filtrado se concentró al vacío y se disolvió en acetona (77 ml). Se añadieron agua (77 ml) y carbonato de sodio (7,79 g, 73,5 mmol) y la mezcla se enfrió a 0 °C antes de añadir dicarbonato de di-*t*-butilo (17,8 g, 81,3 mmol). La reacción se agitó durante 72 h a temperatura ambiente y después se concentró al vacío. La mezcla se extrajo con EtOAc (300 ml, 3 veces) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (10,71 g, 71 %). RMN

$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,82-4,81 (m, 1H), 4,28 (d,  $J = 0,3$  Hz, 1H), 4,10-4,02 (m, 2H), 3,96-3,95 (m, 1H), 3,69 (dd,  $J = 3,0, 10,0$  Hz, 1H), 3,61 (dd,  $J = 3,0, 9,5$  Hz, 1H), 3,29-3,27 (m, 1H), 1,48-1,44 (m, 9H).

### Preparación 26

N-(4-oxotetrahidrofuran-3-il)carbamato de *tert*-butilo



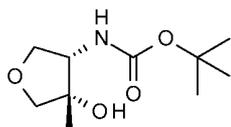
5

Una mezcla de cloruro de oxalilo (3,20 ml, 36,9 mmol) en THF (137 ml) se enfrió a  $-78$  °C en atmósfera de nitrógeno y se trató gota a gota con DMSO (5,24 ml, 73,8 mmol). La mezcla se agitó durante 20 min a  $-78$  °C, después de lo cual se añadió N-[4-hidroxitetrahidrofuran-3-il]carbamato de *trans-tert*-butilo (5,00 g, 24,6 mmol). La agitación a  $-78$  °C continuó durante 1 h. Se añadió trietilamina (18,5 ml, 133 mmol) y la reacción se calentó a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 16 h, después se añadió agua (100 ml) y la reacción se concentró al vacío para retirar el THF. La mezcla se extrajo con EtOAc (70 ml, 3 veces), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para proporcionar 6,4 g de producto en bruto en forma de un aceite de color naranja. El producto en bruto se purificó en gel de sílice (220 g, EtOAc al 15-30 %/hexanos) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (2,20 g, 44 %). CG-EM  $m/z$  201 ( $\text{M}$ )<sup>+</sup>, 143 ( $\text{M}-t\text{-Bu}$ )<sup>+</sup>.

15

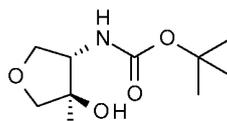
### Preparación 27 y 28

N-[4-Hidroxi-4-metil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de *cis-tert*-butilo y N-[4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de *trans-tert*-butilo



relativo

y



relativo

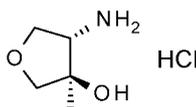
A una solución de N-(4-oxotetrahidrofuran-3-il)carbamato de *tert*-butilo (2,12 g, 10,5 mmol) en éter dietílico (53 ml) a  $0$  °C en atmósfera de nitrógeno se le añadió bromuro de metilmagnesio (10,5 ml, 31,6 mmol, 3,0 M en éter dietílico en porciones). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La reacción se interrumpió cuidadosamente con cloruro de amonio acuoso saturado (10 ml) y agua (100 ml). La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (70 ml, 3 veces), las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtraron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo (2,11 g). El material se purificó en gel de sílice [80 g, EtOAc al 10-30 %/(diclorometano/hexanos 1:1)]. El diastereómero que eluyó primero era N-[(3S,4S)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de *tert*-butilo racémico (y enantiómero) obtenido en forma de un aceite incoloro (1,04 g, 45 %). Estereoquímica *cis* asignada basada en la RMN del Ejemplo 10. CL-EN/EM  $m/z$  240 ( $\text{M}+\text{Na}$ ). El producto que eluyó segundo era N-[(3S,4R)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de *tert*-butilo racémico (y enantiómero) obtenido en forma de un sólido de color blanco (460 mg, 20 %). Estereoquímica *trans* basada en la RMN del Ejemplo 11. LC/EM  $m/z$  240 ( $\text{M}+\text{Na}$ ).

25

30

### Preparación 29

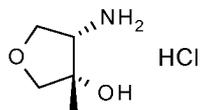
Clorhidrato de *trans*-4-amino-3-metil-tetrahidrofuran-3-ol



relativo

Una solución de N-[(3S,4R)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de *tert*-butilo racémico (450 mg, 2,07 mmol), HCl 4,0 M en dioxano (5,2 ml, 21 mmol), dioxano (5 ml) y metanol (0,8 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo resultante se suspendió en diclorometano y se concentró al vacío, seguido de disolución en MeOH y concentración al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto en forma de un aceite de color castaño (366 mg, cuantitativo). LC-EN/EM  $m/z$  118 ( $\text{M}+1$ ).

40

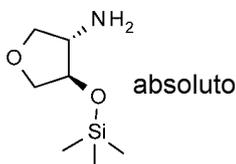
**Preparación 30**Clorhidrato de *cis*-4-amino-3-metil-tetrahidrofuran-3-ol

relativo

- 5 El compuesto del título se preparó esencialmente siguiendo el procedimiento que se ha descrito en la Preparación 29, usando N-[(3S,4S)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de *cis* *tert*-butilo (racémico). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,18-8,17 (m, 2H), 3,99-3,94 (m, 1H), 3,68-3,64 (m, 2H), 3,54 (d, J = 8,35 Hz, 1H), 3,41-3,39 (m, 1H), 1,31 (s, 3H).

**Preparación 31**

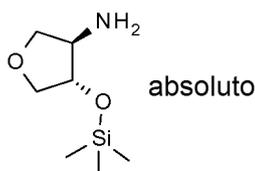
(3S,4R)-4-Trimetilsilioxitetrahidrofuran-3-amina



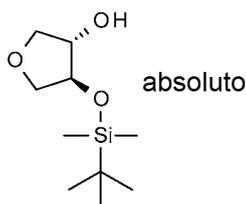
- 10 Una mezcla de [(3R,4S)-4-azidotetrahidrofuran-3-il]oxi-trimetil-silano (870 mg, 4,2 mmol; preparado de acuerdo con el procedimiento exacto que se encuentra en Jacobsen, E. N.; Larrow, J. F.; Schaus, S. E. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 4197-4199; excepto porque se usó el (1R,2R)-(-)-1,2-ciclohexanodiamino-N,N'-bis(3,5-di-*t*-butilsaliciliden)cobalto (II) disponible en el mercado como catalizador), paladio al 10 % sobre carbono (230 mg, 216 μmol) y THF (22 ml) se agitó a temperatura ambiente en hidrógeno (60 psi (413,69 kPa)) durante 16 h. La reacción se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas y el lecho se aclaró con THF (50 ml). El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color marrón (825 mg, cuantitativo). CL-EN/EM m/z 176 (M+1).
- 15

**Preparación 32**

(3R,4S)-4-Trimetilsilioxitetrahidrofuran-3-amina



- 20 El compuesto del título se preparó siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en la Preparación 31 usando [(3S,4R)-4-azidotetrahidrofuran-3-il]oxi-trimetil-silano (9,34 g, 46,4 mmol; preparado en configuración estereoquímica opuesta en comparación con el procedimiento que se encuentra en Jacobsen, E. N.; Larrow, J. F.; Schaus, S. E. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 4197-4199; excepto porque se usó (1S,2S)-(+)-1,2-ciclohexanodiamino-N,N'-bis(3,5-di-*t*-butilsaliciliden)cobalto (II) disponible en el mercado como catalizador) para proporcionar un aceite incoloro (7,55 g, 93 %). CL-EN/EM m/z 176 (M+1).
- 25

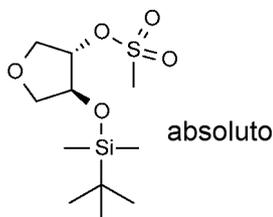
**Preparación 33**(3S,4S)-4-(*tert*-Butil(dimetil)silil)oxitetrahidrofuran-3-ol

- 30 Una mezcla de (3S,4S)-tetrahidrofuran-3,4-diol (9,35 g, 89,8 mmol), *t*-butildimetilclorosilano (14,9 g, 98,8 mmol), TEA (13,8 ml, 98,8 mmol) y diclorometano (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. La reacción se

concentró al vacío y se purificó en gel de sílice (330 g, EtOAc al 35-80 %/hexanos, observado en el análisis por CCF usando tinción por  $\text{KMnO}_4$ ) para proporcionar 3,66 g (19 %) del compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro. CG-EM m/z 161 (M-tBu)<sup>+</sup>.

### Preparación 34

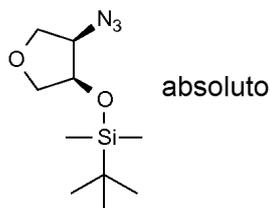
- 5 Metanosulfonato de [(3S,4S)-4-(*tert*-butil(dimetil)silil)oxitetrahidrofuran-3-ilo]



- 10 En atmósfera de nitrógeno, una solución de (3S,4S)-4-(*tert*-butil(dimetil)silil)oxitetrahidrofuran-3-ol (3,30 g, 15,1 mmol), 2,6-lutidina (0,200 ml, 1,72 mmol) y diisopropiletilamina (2,90 ml, 16,6 mmol) en diclorometano (50 ml) se enfrió a -10 °C y se trató lentamente con cloruro de metanosulfonilo (1,23 ml, 15,9 mmol). La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Se añadió una segunda adición de cloruro de metanosulfonilo (0,351 ml, 4,53 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h adicionales. La reacción se agitó con HCl acuoso diluido y diclorometano. Las fases se separaron y la porción orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido (3,99 g, 89 %). CG-EM m/z 239 (M-tBu)<sup>+</sup>.

### 15 Preparación 35

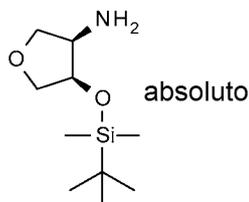
[(3R,4R)-4-Azidotetrahidrofuran-3-il]oxi-*tert*-butil-dimetil-silano



- 20 Se disolvió metanosulfonato de [(3S,4S)-4-(*tert*-butil(dimetil)silil)oxitetrahidrofuran-3-ilo] (3,00 g, 10,1 mmol) en DMF (50 ml). Se añadió azida de sodio (1,32 g, 20,2 mmol) y la reacción se calentó a 60 °C durante 72 h. Se añadió yoduro de tetra-*n*-butilamonio (0,400 g, 1,08 mmol) y la temperatura se elevó a 120 °C durante 14 días. Se añadió agua y el producto se extrajo en EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua una segunda vez y después se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para proporcionar 2,9 g de producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo pálido. El producto en bruto se purificó en gel de sílice (120 g, EtOAc al 2-20 %/hexanos, observado en el análisis por CCF con tinción por  $\text{KMnO}_4$ ) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (1,3 g, 53 %). CG-EM m/z 186 (M-tBu)<sup>+</sup>.

### Preparación 36

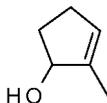
(3R,4R)-4-(*tert*-butil(dimetil)silil)oxitetrahidrofuran-3-amina



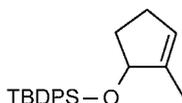
- 30 Una mezcla de [(3R,4R)-4-azidotetrahidrofuran-3-il]oxi-*tert*-butil-dimetil-silano (1,27 g, 5,22 mmol) y paladio al 10 % sobre carbono (25 mg, 0,023 mmol) en etanol (20 ml) se agitó a temperatura ambiente en un balón de hidrógeno durante 16 h. La reacción se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (1,0 g, 88 %). CL-EN/EM m/z 218 (M+1).

**Preparación 37**

2-Metilciclopent-2-en-1-ol



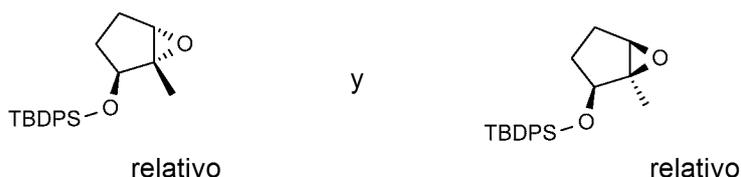
5 Se añadió borohidruro de sodio (8,86 g, 234 mmol) a una solución de 2-metil-2-ciclopenten-1-ona (20,7 g, 215 mmol) en dietil éter (430 ml) a -30 °C en atmósfera de nitrógeno. La reacción se calentó hasta 0 °C y se trató con metanol (9,48 ml, 234 mmol). La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La reacción se trató con metanol (9,48 ml, 234 mmol) y después de 1 h se trató de nuevo con metanol (9,48 ml, 234 mmol). La reacción se agitó durante 72 h a temperatura ambiente, se trató con salmuera (200 ml) y se extrajo en dietil éter (300 ml, 3 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío usando un baño de agua a 30 °C para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (24,2 g, cuantitativo). CG-EM m/z 98 (M<sup>+</sup>).

**Preparación 38***tert*-Butil-(2-metilciclopent-2-en-1-il)oxi-difenil-silano

15 A una solución de 2-metilciclopent-2-en-1-ol (23,06 g, 235,0 mmol), 1*H*-imidazol (32,0 g, 470 mmol) y *N,N*-dimetil-4-piridinamina (5,74 g, 47,0 mmol) en diclorometano (470 ml) a temperatura ambiente se le añadió *tert*-butilclorodifenilsilano (90,41 g, 328,94 mmol) durante 15 min. Después de agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 16 h, se añadió agua (300 ml) y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con diclorometano (200 ml, 2 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto (108 g) en forma de un aceite incoloro. El producto en bruto se purificó en lotes de 20 g sobre 330 g de gel de sílice usando diclorometano al 0-20 %/hexano (producto observado en el análisis por CCF usando tinción con KMnO<sub>4</sub>) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (25,3 g, 32 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,72-7,69 (m, 4H), 7,44-7,41 (m, 6H), 5,44-5,41 (m, 1H), 4,72-4,70 (m, 1H), 2,33-2,29 (m, 1H), 2,06-2,01 (m, 2H), 1,74-1,69 (m, 1H), 1,66-1,65 (m, 3H), 1,09 (s, 9H).

**Preparación 39 y Preparación 40**

*rel-tert*-Butil-[[[(1*S*,4*S*,5*S*)-5-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-il]oxi]difenil-silano, Diastereómero 1 y *rel-tert*-butil-[[[(1*R*,4*S*,5*R*)-5-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-il]oxi]difenil-silano, Diastereómero 2

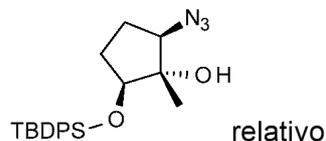


30 Se añadió MCPBA (77 % en peso, 5,03 g, 22,5 mmol, 0,8 eq) a una solución a 0 °C de *tert*-butil-(2-metilciclopent-2-en-1-il)oxi-difenil-silano (9,45 g, 28,1 mmol) en diclorometano (94 ml) y bicarbonato de sodio acuoso saturado (28 ml). La reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente y después se trató con más MCPBA (77 % en peso, 2,52 g, 11,2 mmol, 0,4 equiv) y bicarbonato de sodio acuoso saturado (56 ml). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente la reacción se interrumpió mediante la adición de solución N<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> acuosa saturada y la agitación durante 30 min a temperatura ambiente. La reacción se extrajo con diclorometano (70 ml, 3 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó en gel de sílice (330 g, diclorometano al 30-60 %/hexanos). El primer producto en eluir de la columna de gel de sílice es *rel-tert*-butil-[[[(1*S*,4*S*,5*S*)-5-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-il]oxi]difenil-silano (mezcla de enantiómeros, la estereoquímica relativa se determinó por análisis por RMN) (3,03 g, 31 %, aceite incoloro). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,68-7,64 (m, 4H), 7,45-7,42 (m, 6H), 4,21-4,20 (m, 1H), 3,35 (s, 1H), 1,93-1,88 (m, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,43-1,40 (m, 2H), 1,08 (s, 9H). CL-EN/EM m/z 353 (M+1). El segundo producto en eluir de la columna de gel de sílice es *rel-tert*-butil-[[[(1*R*,4*S*,5*R*)-5-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-il]oxi]difenil-silano (mezcla de enantiómeros) (5,82 g, 59 %, aceite de color blanco lechoso). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,73-7,69 (m, 4H), 7,46-7,42 (m, 6H), 4,03 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 3,11 (s, 1H), 1,90-1,85 (m, 1H), 1,48-1,43 (m, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,08 (s, 9H). CL-EN/EM m/z 353 (M+1).

45

**Preparación 41**

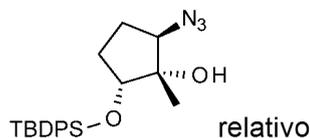
*rel*-(1S,2R, 5S)-2-Azido-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol



Una mezcla de *rel-tert*-butil-[[[(1S,4S,5S)-5-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-il]oxi]difenil-silano (mezcla enantiomérica) (1,0 g, 2,8 mmoles), azida de sodio (782 mg, 11,9 mmol) y DMF (10 ml) se agitó a 60 °C durante 16 h. Se añadieron perclorato de litio (604 mg, 5,7 mmol) y azida de sodio adicional (931 mg, 14,2 mmol) y la reacción se calentó a 90 °C durante 72 h, después se enfriaron a temperatura ambiente. La reacción se trató con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (70 ml, 3 veces). Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido (2,51 g). El material se trasladó en bruto sin purificación o caracterización adicional.

**Preparación 42**

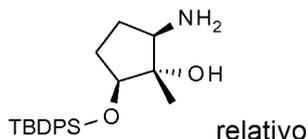
*rel*-(1S,2R,5R)-2-Azido-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol



El compuesto del título se preparó esencialmente siguiendo el procedimiento que se ha descrito en la Preparación 41 usando *rel-tert*-butil-[[[(1R,4S,5R)-5-metil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-il]oxi]difenil-silano (mezcla enantiomérica), excepto porque la reacción se calentó a 90 °C durante 48 h y la adición de perclorato de litio y la segunda adición de azida de sodio se omitieron.

**Preparación 43**

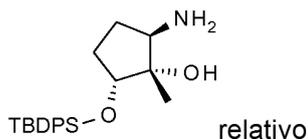
*rel*-(1S,2R,5S)-2-Amino-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol



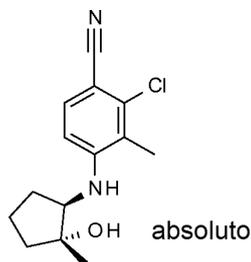
Una mezcla de *rel*-(1S,2R,5S)-2-azido-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol (2,28 g, 5,76 mmol, mezcla de enantiómeros) y paladio al 10 % sobre carbono (61 mg) en etanol (29 ml) se hidrogenó (60 psi (413,69 kPa)) a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas y se aclaró con EtOH (50 ml). El filtrado se concentró al vacío, se disolvió en diclorometano (10 ml) y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó en gel de sílice (120 g, 1-6 % (amoníaco 2 M en metanol/diclorometano) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo opaco (419 mg, 20 %). CL-EN/EM m/z 353 (M+1).

**Preparación 44**

*rel*-(1S,2R,5R)-2-amino-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol



El compuesto del título se preparó siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en la Preparación 43, usando *rel*-(1S,2R,5R)-2-azido-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol para proporcionar el producto en forma de un aceite de color amarillo pálido CL-EN/EM m/z 370 (M+1).

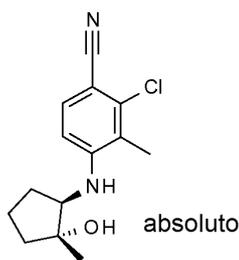
**Ejemplo 1***trans*-2-Cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo, Isómero 2

5 En un vaso a presión de vidrio, una mezcla de *trans*-2-amino-1-metil-ciclopentanol (8,75 g, 53 mmol, 1,5 eq), 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (6 g, 35,4 mmol) y carbonato de litio (7,84 g, 106 mmol) en DMSO (72 ml) y agua (7,2 ml) se desgasificó durante 15 min burbujeando nitrógeno a través de la mezcla. El vaso se cerró herméticamente y se calentó a 130 °C durante 36 h. Después de que se enfriara a temperatura ambiente, la mezcla se inactivó sobre hielo/agua (700 ml) a 5 °C (temperatura interna) con agitación. Después de 15 min, el sólido inicialmente pegajoso se convirtió en un sólido de color crema que se recogió por filtración y se lavó con agua fría. El sólido se agitó en EtOAc (100 ml) durante 30 min y se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas. El filtrado de EtOAc se concentró para proporcionar 15 g de un sólido de color amarillo. El material se purificó mediante cromatografía en gel de sílice usando diclorometano para eluir las impurezas y EtOAc al 10 %/diclorometano para eluir el producto final para obtener el compuesto del título racémico (9,2 g, 98 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,48 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 5,51 (d, 1H), 4,66 (s, 1H), 3,65-3,74 (m, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,01-2,13 (m, 1H), 1,50-1,78 (m, 5H), 1,07 (s, 3H). CL-EN/EM m/z (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 265,2/267,1 (M+1). El compuesto se disolvió en MeOH (70 ml). Los enantiómeros se separaron en inyecciones de 21 mg mediante cromatografía de fluidos supercríticos en dos columnas Chiralpak® AD-H (2 x 25 cm, 5 μm) unidas en serie. Fase móvil: dióxido de isopropanol al 20 %/carbono. Caudal: 65 ml/min. Detección: 215 nm. Cada desarrollo fue de 6,48 min. El primer pico en eluir se obtuvo como Isómero 1 y el segundo pico en eluir se obtuvo como el compuesto del título, Isómero 2 (4,13 g, exceso enantiomérico del 100 %). El exceso enantiomérico se determinó por CFS en una columna CHIRALPAK® AD-H (4,6 x 100 mm, 5 μm) usando dióxido de isopropanol al 20 %/carbono. Caudal: 2,5 ml/min. Detección: 215 nm. Isómero 1 T<sub>R</sub> = 2,53 min. Isómero 2 (compuesto del título) T<sub>R</sub> = 3,06 min.

El compuesto del Ejemplo 1 también puede nombrarse o denominarse 2-cloro-4-[[1R,2R]-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo.

**Ejemplo 1A (Procedimiento alternativo)**

2-Cloro-4-[[[1R,2R]-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo



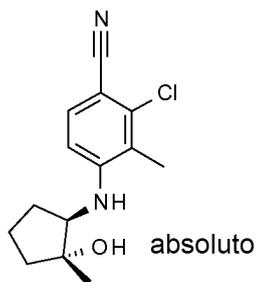
La reacción a continuación se realizó en seis lotes en paralelo.

30 Una mezcla de *trans*-2-amino-1-metil-ciclopentanol (34,93 g, 212,3 mmol), 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (30 g, 176,9 mmol), carbonato de litio (26,14 g, 353,8 mmol), DMSO (270 ml), agua (30 ml) en un reactor a presión de 420 ml se desgasificó durante 15 min burbujeando nitrógeno, se cerró herméticamente y se calentó con agitación vigorosa a 130 °C durante 48 h. Después de que se enfriaran a temperatura ambiente, tres de los lotes se vertieron sobre agua (9 l) y MTBE (1 l), se agitaron durante 30 min, se filtraron a través de tierra de diatomeas y se transfirieron a un embudo de decantación. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se lavó dos veces con MTBE (1 l, 2 veces). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. La elaboración se repitió para los tres lotes restantes y todos los lotes se combinaron para aislar el producto en bruto deseado (400 g). El material se purificó en gel de sílice, eluyendo con EtOAc del 0 al 10 %/diclorometano para obtener el compuesto del título racémico puro (diastereómero *trans*) (280 g, 99 %). El compuesto se disolvió a una concentración de 10,3 mg/ml en fase móvil de isopropanol a 25 %/heptanos al 75 %. Los enantiómeros se separaron en porciones de 1,16 g (113 ml) por inyección mediante HPLC preparativa en una columna CHIRALPAK® AD-H (11 x 35 cm, 20 μm) usando un procedimiento de reciclaje del estado estacionario (SSR, del inglés *steady*

state recycle) (rendimiento 10,2 g/h). Fase móvil: isopropanol al 25 %/heptano. Caudal: 850 ml/min. Detección: 290 nm. El primer pico en eluir se obtuvo como Isómero 1 (exceso enantiomérico de > 98 %) y el segundo pico en eluir se obtuvo como el compuesto del título, Isómero 2 (137 g, exceso enantiomérico del 97,7 %). El exceso enantiomérico se determinó mediante HPLC en una columna CHIRALPAK® AD-H (4,6 x 150 mm, 5 µm) usando isopropanol al 25 %/heptano. Caudal: 0,6 ml/min. Detección: 270 nm. Isómero 1  $T_R = 6,7$  min. El isómero deseado fue el segundo en eluir en estas condiciones de HPLC quiral. Isómero 2 (compuesto del título)  $T_R = 7,9$  min.

### Ejemplo 1B

Recristalización y rayos X de cristal único para la determinación de la estereoquímica absoluta de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo



Se colocó 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (21,62 g, 81,66 mmol) en un matraz de fondo redondo provisto de una manta calefactora, un termómetro interno y una barra de agitación. Se añadió acetona (33 ml) y la suspensión se agitó y se calentó a 50 °C. A esta temperatura, el sólido de color amarillento entró en solución por completo. La solución se calentó a 60 °C. Se añadió heptano lentamente usando un embudo de adición. Después de añadir 75 ml, cada gota de disolvente creó una turbidez que desapareció casi instantáneamente agitando a 60 °C. Después de que se añadieran heptanos adicionales (50 ml), la turbidez tardó más en desaparecer ya que la solución se estaba saturando. La solución se mantuvo turbia y se detuvo la adición de heptano. La temperatura se elevó a 62 °C y se añadió acetona (5 ml) que volvió la solución completamente transparente de nuevo. Se añadió heptano (100 ml) gota a gota volviendo la solución turbia de nuevo. La temperatura se elevó a 67 °C y la acetona se separó por destilación y se recogió en un aparato de Dean-Stark. La suspensión se dejó enfriar a temperatura ambiente gradualmente y se dejó reposar durante 18 h. El sólido de color blanco resultante se filtró y se colocó en alto vacío. Después de 4 h en alto vacío se observó por RMN que había presente una cantidad significativa de acetona. El tiempo adicional en alto vacío no eliminó la acetona. El material se suspendió en hexano durante 30 min, se filtró y se colocó en alto vacío de nuevo para proporcionar el compuesto final en forma de un sólido de color blanco (18,1 g). CL-EN/EM m/z 265,0 (M+1).

**Determinación de la estereoquímica absoluta:** El compuesto tenía una tendencia pronunciada a formar estructuras solvatadas con casi cada disolvente en el que tenía una solubilidad significativa. Como prueba de la estereoquímica absoluta de la molécula, se formaron cristales usando un disolvente quiral de manera que la quiralidad conocida de su estereocentro podría estar relacionada con la quiralidad del estereocentro desconocido de la molécula de fármaco. Esto sirvió como fuente de determinación de la estereoquímica absoluta. Un segundo procedimiento utilizado para su determinación se realizó mediante el perfeccionamiento del parámetro de estructura absoluta. La dispersión anómala, en gran parte debida al átomo de cloro "pesado" fue suficientemente significativa para concluir la estereoquímica absoluta del compuesto directamente, como parámetro perfeccionado para un valor de 0,054(11). Ambos procedimientos son procedimientos habitualmente aceptados para la determinación de la quiralidad de los estereocentros desconocidos de moléculas orgánicas por cristalografía de rayos X y proporcionaron resultados coherentes. La estructura estudiada cristalizó en forma de un "hemi" solvato de lactato de S-(-)-metilo como se describe en el presente documento, que tenía una relación de dos moléculas del fármaco por una molécula de disolvente. Se disolvió 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (35 mg, tomado de la porción de 18,1 g descrita anteriormente) en lactato de S-(-)-metilo (500 µl). El vial de muestra se colocó "sin tapa" en un recipiente más grande, un frasco de 100 ml Pyrex® que contenía n-pentano y la botella más grande se tapó. Se permitió que se produjera la difusión del vapor durante la noche, por lo que el n-pentano más volátil difundió en la solución de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo y lactato de S-(-)-metilo, efectuando el crecimiento de cristales individuales. Los cristales se recogieron separando por decantación el exceso de solución. Uno de los cristales grandes se aisló y se analizó por difracción de rayos X de cristal único. La recogida de datos y los resultados de la determinación de la estructura de cristal único de esta forma solvatada tuvieron las siguientes características.

Se montó un cristal único en una fibra de vidrio fina a 100(2) °K. Los datos se recogieron usando una fuente de radiación  $\text{CuK}_\alpha$  ( $\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$ ) y un difractor goniómetro de 3 círculos basado en un Bruker D8 equipado con un detector de área SMART 6000CCD (Bruker-AXS, Madison, Wisconsin, EE.UU.). El perfeccionamiento de la celda y la reducción de datos se realizaron con el programa SAINT V7.68a (Sheldrick, G. M. SHELXS86. *Acta Cryst.* (1990) A46, 467-473). La celda unitaria se indexó, teniendo parámetros monoclinicos de  $a = 7,5457(2) \text{ \AA}$ ,  $b =$

17,1858(6) Å,  $c = 12,3017(4)$  Å y  $\beta = 97,6870(10)^\circ$ . El volumen de la celda de la estructura cristalina era 1580,93(9) Å<sup>3</sup>. La densidad calculada de la molécula fue de 1,331 g/cm<sup>3</sup> a 100 °K. La estructura se resolvió por procedimientos directos (Sheldrick, G. M. SHELXS86. *Acta Cryst.* (1990) A46, 467-473). Todos los parámetros atómicos no de hidrógeno se perfeccionaron independientemente. La elección del grupo espacial de P2(1) se confirmó por la convergencia satisfactoria del perfeccionamiento de mínimos cuadrados de matriz completa en F<sup>2</sup> (Sheldrick, G. M. (1993). SHELXS93). *Program for crystal structure refinement. Institute fur anorg chemie, Göttingen, Alemania*) con una bondad final del ajuste de 1,038. El factor residual final, R<sub>1</sub>, fue de 0,0344 y wR2 fue 0,089. El pico y el mínimo de mayor de diferencia después del ciclo de perfeccionamiento final fueron 0,239 y -0,298 (e-Å<sup>-3</sup>), respectivamente. La estereoquímica absoluta se determinó mediante el perfeccionamiento del parámetro de estructura absoluta a 0,054(11), lo que indicó que la estereoquímica de la molécula era como se representa (1R,2R).

#### Datos de caracterización de difracción de rayos X de polvo (DRXP) de formas anhidras

Los patrones de DRX de los cristales se obtuvieron en un difractómetro de rayos X de polvo Bruker D4 Endeavor, equipado con una fuente de CuK $\alpha$  ( $\lambda = 1,54056$  Å) y un detector Vantec, operando a 35 kV y 50 mA y con rendijas de divergencia y recepción de 1 mm y una rendija del detector de 0,1 mm. Cada muestra se exploró entre 4 y 40 ° en 2 $\theta$ . El polvo seco se compactó en un soporte de muestra de carga superior rebajado y se obtuvo una superficie lisa usando un portaobjetos de vidrio. Los patrones de difracción de la forma cristalina se recogieron a la temperatura y la humedad relativa ambientales.

Es bien sabido en la técnica cristalográfica que, para cualquier forma cristalina dada, las intensidades relativas de los picos de difracción pueden variar debido a la orientación preferida resultado de factores tales como la morfología y el hábito cristalinos. Cuando los efectos de la orientación preferida están presentes, las intensidades de pico se alteran, pero las posiciones de los picos característicos del polimorfo se mantienen sin cambios. Véase, por ejemplo, La Farmacopea de los Estados Unidos N.º 23, Formulario Nacional N.º 18, páginas 1843-1844, 1995. Además, también es bien sabido en la técnica cristalográfica que para cualquier forma cristalina dada las posiciones de los picos angulares pueden variar ligeramente. Por ejemplo, las posiciones de los picos pueden desplazarse debido a una variación en la temperatura o la humedad a las que se analiza una muestra, el desplazamiento de la muestra o la presencia o ausencia de un patrón interno. En el presente caso, una variabilidad de la posición del pico de  $\pm 0,1$  en 2 $\theta$  tendrá en cuenta estas variaciones potenciales sin impedir la identificación inequívoca de la forma cristalina indicada.

#### Ejemplo 1C

Forma cristalina 1 de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

Se disolvió 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (430 mg) en acetona (1 ml) a la que se le añadió heptano (5 ml). La mezcla se agitó a 60 °C. Después, se dejó que la mezcla se concentrara para proporcionar una suspensión espesa de color blanco y se incorporó heptano (3 ml) mientras continuaba la concentración a 60 °C. El material se filtró al vacío para proporcionar 308 mg (72 %) y se secó adicionalmente al vacío a 70 °C durante la noche.

La confirmación de una forma cristalina puede hacerse basándose en cualquier combinación única de distinción de picos (en unidades de ° 2 $\theta$ ), normalmente los picos más prominentes. Por tanto, una muestra preparada de la Forma cristalina 1 de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo se caracterizó, mediante un patrón de DRX usando radiación CuK $\alpha$ , como que tenía picos de difracción (valores de 2-teta) como se describen en la Tabla 1 a continuación y en particular como que tenía picos a 9,18 en combinación con uno o más de los picos seleccionados entre el grupo que consiste en 14,87, 17,97 y 18,46; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,1 grados.

Tabla 1

Picos de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo 1C		
Pico	Ángulo (° 2-teta)	Intensidad (%)
1	9,18	100
2	14,87	44
3	15,12	15
4	17,97	26
5	18,46	16
6	21,84	9
7	22,77	7
8	23,07	8
9	23,87	9
10	24,40	8

**Ejemplo ID**

Forma cristalina 2 de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

El material recristalizado en el Ejemplo 1B se usó para caracterizar la Forma 2.

- 5 La confirmación de una forma cristalina puede hacerse basándose en cualquier combinación única de distinción de picos (en unidades de  $^{\circ} 2\theta$ ), normalmente los picos más prominentes. Por tanto, una muestra preparada de la Forma cristalina 2 de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo se caracterizó, mediante un patrón de DRX usando radiación  $\text{CuK}\alpha$ , como que tenía picos de difracción (valores de 2-teta) como se describen en la Tabla 2 a continuación y en particular como que tenía picos a 20,45 en combinación con uno o más de los picos seleccionados entre el grupo que consiste en 17,77, 16,15 y 12,59; con una tolerancia para los ángulos de difracción
- 10 de 0,1 grados.

Tabla 2

<b>Picos de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo ID</b>		
<b>Pico</b>	<b>Ángulo ( <math>2\text{-teta}</math>)</b>	<b>Intensidad (%)</b>
1	14,52	17
2	16,15	49
3	17,77	72
4	20,45	100
5	21,77	23
6	25,19	33
7	26,19	29
8	26,93	13
9	30,07	22
10	30,96	29
11	32,65	11
12	35,91	32
13	37,36	14

**Ejemplo IE**

Solvato de etanol cristalino de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

- 15 Se pesó 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (104 mg) en un pequeño vial de muestra. Se añadió etanol (0,50 ml). La muestra se dejó en agitación durante el fin de semana. Después, el material aislado se caracterizó por difracción de rayos X. El patrón se recogió rápidamente para minimizar la conversión de fase, usando los mismos ajustes que antes, aunque con un tamaño de etapa más grande de 0,017 grados dos teta y 0,1 segundos por etapa.

- 20 La confirmación de una forma cristalina puede hacerse basándose en cualquier combinación única de distinción de picos (en unidades de  $^{\circ} 2\theta$ ), normalmente los picos más prominentes. Por tanto, una muestra preparada del solvato de etanol cristalino de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo se caracterizó, mediante un patrón de DRX usando radiación  $\text{CuK}\alpha$ , como que tenía picos de difracción (valores de 2-teta) como se describen en la Tabla 3 a continuación y en particular como que tenía picos a 7,00 en combinación con uno o más de los picos seleccionados entre el grupo que consiste en 17,26, 23,34 y 12,30; con una tolerancia para los ángulos
- 25 de difracción de 0,2 grados.

Tabla 3

<b>Picos de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo IE</b>		
<b>Pico</b>	<b>Ángulo ( <math>2\text{-teta}</math>)</b>	<b>Intensidad (%)</b>
1	7,00	100
2	8,59	3
3	10,13	3
4	11,89	3
5	12,30	6
6	12,91	4
7	13,95	4
8	16,76	3
9	17,26	19
10	23,34	31

**Ejemplo 1F**

Solvato de isopropanol cristalino de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

5 Se pesó 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (114 mg) en un pequeño vial de muestra. Se añadió isopropanol (0,50 ml). La muestra se dejó en agitación durante el fin de semana. Después, el material aislado se caracterizó por difracción de rayos X.

10 La confirmación de una forma cristalina puede hacerse basándose en cualquier combinación única de distinción de picos (en unidades de  $2\theta$ ), normalmente los picos más prominentes. Por tanto, una muestra preparada del solvato de etanol cristalino de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo se caracterizó, mediante un patrón de DRX usando radiación  $\text{CuK}\alpha$ , como que tenía picos de difracción (valores de 2-teta) como se describen en la Tabla 4 a continuación y en particular como que tenía picos a 7,07 en combinación con uno o más de los picos seleccionados entre el grupo que consiste en 6,93, 17,12 y 23,13; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

Tabla 4

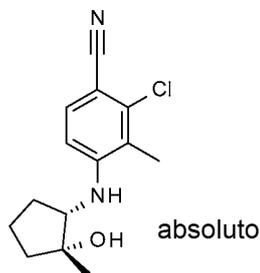
Picos de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo 1F		
Pico	Ángulo ( $2\theta$ )	Intensidad (%)
1	6,9	43
2	7,1	100
3	12,2	6
4	13,4	3
5	16,6	3
6	17,1	30
7	23,1	46
8	23,9	2
9	26,0	2
10	31,8	2

**Ejemplo 1G**

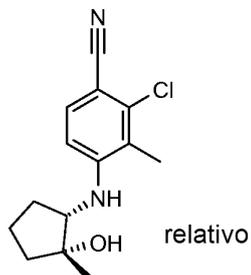
Recristalización a gran escala de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

En un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 3 l, se calentó 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (131,4 g, 496,3 mmol) en acetona (200 ml) a 50 °C hasta que todos los sólidos se disolvieron. La temperatura se elevó a 60 °C y se añadió heptano (aproximadamente 1,35 l) lentamente usando un embudo de adición. La temperatura se elevó a 65 °C y se destiló acetona (aproximadamente 15 ml) y se recogió con una trampa Dean-Stark. Después de 1 h la temperatura se elevó a 67 °C. La solución se sembró con ácido 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (1 g) y se destiló acetona (aproximadamente 80 ml). Los cristales de siembra pueden obtenerse a partir del Ejemplo 1B o generarse a partir de los sólidos obtenidos en el Ejemplo 1 o 1A o pueden obtenerse usando otros procedimientos habituales para un experto en la materia, tales como recristalización de una pequeña parte alícuota. Después de 1 h se retiró el calor y la suspensión se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente lentamente. Los sólidos de color blanco se recogieron por filtración y se dejaron al vacío durante la noche para obtener 116,0 g de producto. Se recogió producto adicional (5,6 g) por filtración de las aguas madre. En un matraz de 3 l, una suspensión de 116,0 g del producto en hexanos (1,5 l) se sembró con 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (aproximadamente 2 g) y se agitaron durante 4 h. El sólido de color blanco se recogió por filtración y se dejó en una corriente de nitrógeno durante 48 horas. Precipitó producto adicional (2,6 g) en el agua madre y se recogió por filtración. Se aisló una cantidad total de 109,7 g de 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7,47 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 5,48 (d, 1H), 4,64 (s, 1H), 3,65-3,74 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 2,01-2,13 (m, 1H), 1,50-1,78 (m, 5H), 1,03 (s, 3H). CL-EN/EM m/z ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 265,2/267,2 (M+1).  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +20,2^\circ$  (c 1,0, EtOH).

35

**Ejemplo 2**2-Cloro-4-[[*(1S,2R)*-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

- 5 En un vaso a presión cerrado herméticamente, una mezcla de 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (1,2 g, 7,08 mmol), (*1R,2S*)-2-amino-1-metil-ciclopentanol (1,63 g, 14,2 mmol) y carbonato de litio (1,10 g, 14,9 mmol) en DMSO (14,4 ml) y agua (1,4 ml) se calentó a 130 °C durante la noche. Después de dejar que la reacción se enfriara a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó dos veces con ácido clorhídrico 1 N. La fase orgánica se concentró a presión reducida y se purificó usando cromatografía radial eluyendo con EtOAc/hexanos (EtOAc del 20 al 50 %/hexanos). El residuo resultante se volvió a purificar usando cromatografía radial con metanol
- 10 al 1 %/diclorometano. El producto aislado se recrystalizó con éter/hexanos, se recogió por filtración y se secó a presión reducida para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (450 mg, 24 %). También se aisló un segundo cultivo (84 mg). CL-EN/EM  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 265/267 (M+1). RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1,16 (s, 3H), 1,71-1,73 (m, 5H), 2,12-2,13 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 3,46-3,50 (m, 1H), 4,93 (s, 1H), 5,26-5,30 (m, 1H), 6,63 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 7,47 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H). El análisis por HPLC quiral mostró que el material tenía un
- 15 exceso enantiomérico del 67 %. El exceso enantiomérico se determinó por CFS en una columna CHIRALPAK® AS-H (4,6 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) usando dióxido de etanol al 20 %/carbono. Caudal: 5 ml/min. Detección: 225 nm. Isómero 1 (compuesto del título):  $T_R = 1,39$  min; Isómero 2:  $T_R = 1,99$  min. La estereoquímica absoluta del isómero 1 (*1S,2R*) se supo por la correlación de los tiempos de retención con el Isómero 1 y el Isómero 2 como se describen en el Ejemplo 3.
- 20 El material enantioenriquecido (534 mg) se disolvió en metanol (5,5 ml) y se purificó en inyecciones de 500  $\mu\text{l}$  por CFS en una columna CHIRALPAK® AS-H (2,1 x 25 cm, 5  $\mu\text{m}$ ) usando etanol al 20 %/dióxido de carbono. Caudal: 70 ml/min. Detección: 225 nm. El compuesto del título se aisló como el primer pico en eluir, Isómero 1 (326 mg) en exceso enantiomérico del 99 %. El exceso enantiomérico se determinó mediante CFS como se ha descrito anteriormente.

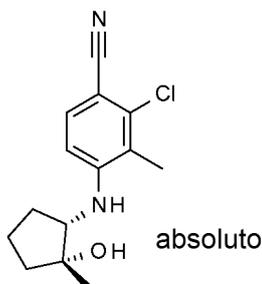
**25 Procedimiento alternativo (Ejemplo 2A y 2B)****Ejemplo 2A***cis*-2-Cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

- 30 Se añadió 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (12,4 g, 73,2 mmol) a una solución recién preparada de 2-amino-1-metil-ciclopentanol, clorhidrato racémico (20,4 g) en DMSO (145 ml) en un vaso reactor a presión. Se añadieron carbonato de litio (15,5 g, 209 mmol) y agua (14,5 ml). La mezcla se agitó y se desgasificó con nitrógeno durante 10 min. El reactor se cerró herméticamente y la reacción se agitó a 130 °C durante 28 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua (1 l) y MTBE (150 ml). La mezcla se agitó durante 10 min a temperatura ambiente y se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se
- 35 extrajo con MTBE (100 ml, 2 veces). Las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para proporcionar el material en bruto. El material se purificó usando cromatografía en gel de sílice eluyendo primero con cloruro de metileno al 100 % para obtener el compuesto *cis*-2-cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (5,6 g, 20 %). RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,47 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 6,63 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 5,26-5,30 (m, 1H), 4,93 (s, 1H), 3,46-3,50 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 2,12-2,13 (m, 1H), 1,71-1,73 (m, 5H), 1,16 (s, 3H). CL-EN/EM  $m/z$  265,2 (M+1).
- 40

Después del aislamiento del isómero *cis*, la elución continuó usando una mezcla de cloruro de metileno/EtOAc (9/1) para proporcionar (3,6 g, 12 %) del *trans*-2-cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,48 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 5,51 (d, 1H), 4,66 (s, 1H), 3,65-3,74 (m, 1H), 2,21 (s, 1H), 2,01-2,13 (m, 1H), 1,50-1,78 (m, 5H), 1,07 (s, 3H). CL-EN/EM m/z 265,2 (M+1).

### 5 Ejemplo 2B

2-Cloro-4-[[[(1S,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

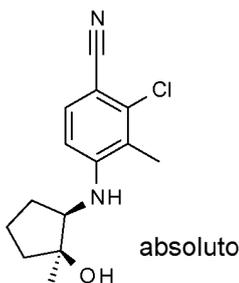


Se purificó *cis*-2-cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (9,5 g) en inyecciones de 70 mg mediante cromatografía de fluidos supercríticos en dos columnas CHIRALPAK® Chiralpak AS-H (2 x 25 cm, 5 μm) unidas en serie eluyendo con etanol al 20 %/dióxido de carbono. Caudal: 65 ml/min. Detección: 215 nm. Cada desarrollo es de 4,5 min. El primer pico en eluir proporciona el compuesto del título en forma del Isómero 1 (4,23 g, exceso enantiomérico del > 98 %). Isómero 1 (compuesto del título): T<sub>R</sub> = 1,40 min; Isómero 2: T<sub>R</sub> = 1,77 min. La estereoquímica absoluta del isómero 1 (1S,2R) se supo por la correlación de los tiempos de retención con el Isómero 1 y el Isómero 2 como se describen en el Ejemplo 3.

El material obtenido a partir de la purificación por CFS se disolvió en MTBE (10 l/kg) y después se trató con carbón vegetal (200 mg) y gel de sílice (1 g). La mezcla se agitó durante 1 h y después se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas. Los filtrados se recogieron y se evaporaron para obtener el compuesto del título (4,1 g) en forma de un sólido de color blanco. CL-EN/EM m/z 265,2 (M+1); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,16 (s, 3H), 1,73-1,71 (m, 5H), 2,13-2,12 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 3,50-3,46 (m, 1H), 4,93 (s, 1H), 5,30-5,26 (m, 1H), 6,63 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,47 (d, J = 8,6 Hz, 1H); Pureza quiral > 98 % ee, Chiralpak AS H, EtOH al 20 %/CO<sub>2</sub>, 65 ml/min, 215 nm.

### Ejemplo 3

2-Cloro-4-[[[(1R,2S)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo



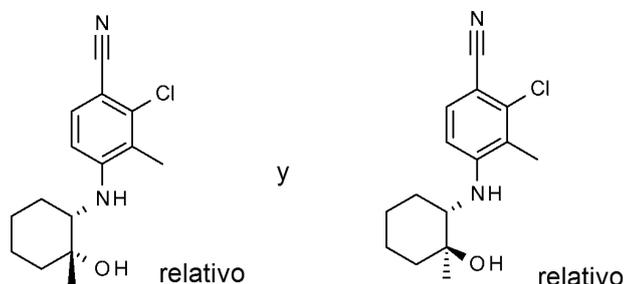
Se preparó 2-cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo esencialmente como se ha descrito en el Ejemplo 1 usando 2-amino-1-metil-ciclopentanol, clorhidrato y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo. El material en bruto se purificó usando cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 25-55 %/hexano) para obtener el Diastereómero 1 (0,54 g) y el Diastereómero 2 (1,56 g). Al Diastereómero 2 se le asigna la configuración *trans* basándose en el co-cristal con RA.

El Diastereómero 1 (*cis*-2-cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo) (500 mg) se disolvió en metanol/diclorometano 5:1 (6 ml). Los enantiómeros se separaron en inyecciones de 750 μl mediante cromatografía de fluidos supercríticos en una columna CHIRALPAK® AD-H (2,1 x 25 cm). Fase móvil: etanol al 20 %/dióxido de carbono. Caudal: 70 ml/min. Detección: 280 nm. Cada desarrollo fue de 3,1 min. El primer pico en eluir se obtuvo como isómero 1 (206 mg, exceso enantiomérico del 99 %). La estereoquímica absoluta del isómero 1 (1S,2R) se determinó por rayos X de co-cristal con RA.

El segundo pico en eluir se obtuvo como el compuesto del título (1R,2S), Isómero 2 (256 mg, exceso enantiomérico del 99 %). El exceso enantiomérico se determinó por CFS en una columna CHIRALPAK® AD-H (2,1 x 25 cm, 5 μm) usando etanol al 20 %/dióxido de carbono. Caudal: 5 ml/min. Detección: 225 nm. Isómero 1 T<sub>R</sub> = 1,37 min; Isómero 2 T<sub>R</sub> = 1,86 min. CL-EN/EM m/z 264,8 (M+1).

**Ejemplo 4 y Ejemplo 5**

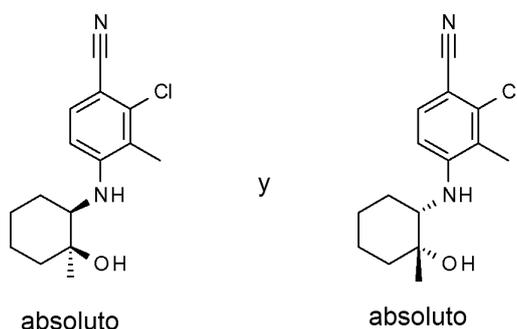
cis-2-Cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo y trans-2-Cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo



- 5 Se preparó 2-cloro-4-[2-hidroxi-2-metil-ciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo esencialmente como se ha descrito en el Ejemplo 1 usando clorhidrato de 2-amino-1-metil-ciclohexanol y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo. El material en bruto se purificó usando cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 25-55 %/hexano) para obtener el primer compuesto en eluir como Diastereómero 1 (*cis*) (482 mg). CL-EN/EM m/z 279 (M+1) y el segundo compuesto en eluir como Diastereómero 2 (*trans*) (101 mg). CL-EN/EM m/z 279 (M+1). La estereoquímica relativa se asigna en función de la RMN del Ejemplo 6.

**Ejemplos 6 y 7**

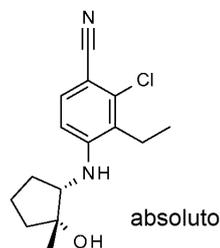
2-Cloro-4-[[1R,2S)-2-hidroxi-2-metil-ciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo (Enantiómero 1) y 2-cloro-4-[[1S,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo (Enantiómero 2)



- 15 La mezcla enantiomérica de cis-2-cloro-4-[[2-hidroxi-2-metil-ciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo (450 mg) se disolvió en metanol/etanol/diclorometano 2:1:1 (4 ml) y se separó en inyecciones de 300 µl mediante cromatografía de fluidos supercríticos en una columna AD-H CHIRALPAK® (2,1 x 15 cm, 5 µm). Fase móvil: etanol al 20 %/dióxido de carbono. Caudal: 70 ml/min. Detección: 225 nm. El primer pico en eluir se obtuvo como Enantiómero 1 y el segundo pico en eluir se obtuvo como Enantiómero 2. El exceso enantiomérico se determinó por CFS en una columna CHIRALPAK® AD-H (2,1 x 25 cm, 5 µm) usando etanol al 20 %/dióxido de carbono. Caudal: 5 ml/min. Detección: 225 nm.
- 20 Ejemplo 6, Enantiómero 1: 216 mg,  $T_R = 1,44$  min, 99 % ee; CL-EN/EM m/z 279 (M+1); la estereoquímica relativa cis determinada por RMN. RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,10-1,90 (m, 12H), 2,19 (s, 3H), 3,10-3,25 (m, 1H), 4,66 (d, 1H), 6,40 (d, 1H), 7,31 (d, 1H).
- 25 Ejemplo 7, Enantiómero 2: 205 mg,  $T_R = 1,83$  min, 99 % ee; CL-EN/EM m/z 279 (M+1). La estereoquímica absoluta de (1S,2R) se determinó por rayos X con RA.

**Ejemplo 8**

2-Cloro-3-etil-4-[[[(1S,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]benzonitrilo



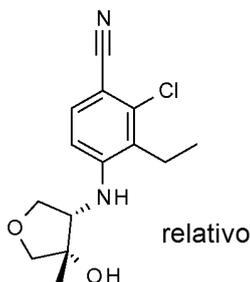
5 Se preparó 2-cloro-3-etil-4-[[[(1S)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]benzonitrilo esencialmente como se ha descrito en el Ejemplo 1 usando (2S)-2-amino-1-metil-ciclopentanol (Preparación 18) y 2-cloro-3-etil-4-fluoro-benzonitrilo. El material en bruto (350 mg) se purificó usando cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 20-60 %/hexano) para obtener el Diastereómero 1 (*cis*) (82 mg) y el Diastereómero 2 (*trans*) (29 mg).

10 **Ejemplo 8, diastereoisómero 1:** CL-EN/EM m/z 279 (M+1). El análisis por RMN mostró una estructura coherente con el diastereómero *cis*. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,33 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,45 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,15-5,11 (m, 1H), 3,49-3,41 (m, 1H), 2,76-2,70 (m, 2H), 2,28-2,24 (m, 1H), 1,89-1,84 (m, 3H), 1,72-1,67 (m, 3H), 1,36 (s, 3H), 1,14 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). El exceso enantiomérico se determinó por CFS en una columna CHIRALPAK® AS-H (2,1 x 25 cm) usando EtOH al 20 %/dióxido de carbono. Caudal: 5 ml/min. Detección: 225 nm. 70 % ee, 85 % a T<sub>R</sub> = 1,24 min, 15 % a T<sub>R</sub> = 1,75 min.

15 **Diastereómero 2:** CL-EN/EM m/z 279 (M+1). El análisis por CL quiral mostró 60 % ee. Los compuestos en la Tabla 5 a continuación se prepararon siguiendo esencialmente el procedimiento que se ha descrito para el Ejemplo 1, usando *trans*-4-aminotetrahidropirano-3-ol (Preparación 23) y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo o 2-cloro-3-etil-4-fluoro-benzonitrilo.

Tabla 5

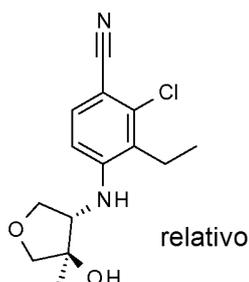
Ej o Prep	Nombre químico	Estructura	CL-EN/EM m/z
9	<i>trans</i> -2-cloro-4-[(3-hidroxitetrahidropiran-4-il)amino]-3-metil-benzonitrilo		266,8 (M+1)
Prep 45	<i>trans</i> -2-cloro-4-[(3-hidroxitetrahidropiran-4-il)amino]-3-etil-benzonitrilo		281,0 (M+1)

**Ejemplo 10**20 *cis*-2-Cloro-3-etil-4-[4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofurano-3-il]amino]benzonitrilo

El compuesto del título se preparó siguiendo esencialmente el procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 1, usando clorhidrato de *cis*-4-amino-3-metil-tetrahidrofuran-3-ol (Preparación 30) y 2-cloro-3-etil-4-fluoro-benzonitrilo. El análisis por RMN en comparación con el Ejemplo 1 y 2 indica la estereoquímica relativa *cis*. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,36-7,33 (m, 1H), 6,37 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 5,30-5,25 (m, 1H), 4,30-4,26 (m, 1H), 3,87 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,78-3,74 (m, 2H), 3,64-3,59 (m, 1H), 2,76 (c, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,13 (s, 1H), 1,44-1,43 (m, 3H), 1,16 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). CL-EN/EM m/z 281 (M+1).

### Ejemplo 11

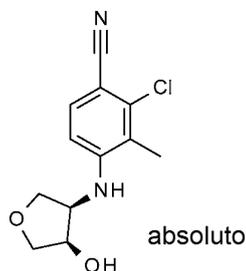
*trans*-2-Cloro-3-etil-4-[[4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofurano-3-il]amino]benzonitrilo



El compuesto del título se preparó siguiendo esencialmente el procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 1, usando clorhidrato de *trans*-4-amino-3-metil-tetrahidrofuran-3-ol (Preparación 29) y 2-cloro-3-etil-4-fluoro-benzonitrilo. El análisis por RMN en comparación con el Ejemplo 1 y 2 indica la estereoquímica relativa *trans*. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,36 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,71 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,45 (dd, *J* = 6,2, 9,6 Hz, 1H), 4,27-4,24 (m, 1H), 4,03-3,98 (m, 1H), 3,84 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 3,71 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 3,62 (dd, *J* = 4,1, 9,6 Hz, 1H), 2,81-2,70 (m, 2H), 2,35-2,34 (m, 1H), 1,32 (s, 3H), 1,13 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). CL-EN/EM m/z 281 (M+1).

### Ejemplo 12

2-Cloro-4-[[[(3R,4R)-4-hidroxitetrahidrofurano-3-il]amino]-3-metil-benzonitrilo

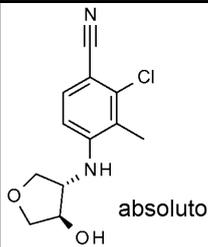
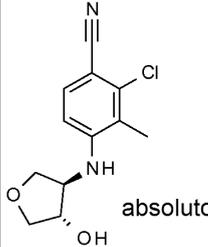
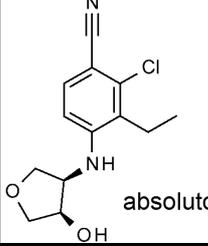


El compuesto del título se preparó siguiendo esencialmente el procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 1 usando (3R,4R)-4-(*tert*-butil(dimetil)silil)oxitetrahidrofuran-3-amina (Preparación 36) y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo. El producto en bruto se purificó en gel de sílice usando EtOAc al 40-70 %/hexanos. El producto aislado se disolvió en THF para fabricar una solución 0,5 M. Se añadió TBAF (2,0 ml, 2 mmol, solución 1 M en THF) y se agitaron a temperatura ambiente durante 16 h. La solución se concentró al vacío, se añadió EtOAc y la solución se lavó con agua (2x). La porción orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa en sílice unida a C18 usando acetonitrilo al 15-95 %/agua + ácido fórmico al 0,1 %. Las fracciones que contenían el compuesto del título se concentraron al vacío para retirar el acetonitrilo, después se extrajeron con EtOAc. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (134 mg, 19 %). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,53 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,73 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,60-5,56 (m, 1H), 5,53 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H), 4,33-4,29 (m, 1H), 4,05-3,99 (m, 2H), 3,92 (dd, *J* = 4,6, 9,6 Hz, 1H), 3,63 (dd, *J* = 2,4, 9,5 Hz, 1H), 3,53-3,50 (m, 1H), 2,19 (s, 3H). CL-EN/EM m/z 253 (M+1).

Los ejemplos de la Tabla 6 a continuación se prepararon siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en el Ejemplo 12 usando el aminoalcohol protegido con TMS o TBDMS apropiado y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo o 2-cloro-3-etil-4-fluoro-benzonitrilo.

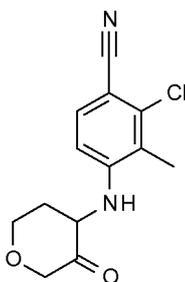
35

Tabla 6

Ej	Nombre químico	Estructura	CL-EN/EM m/z
13	2-Cloro-4-[[[(3S,4R)-4-hidroxitetrahidrofurano-3-il]amino]-3-metil-benzonitrilo		253 (M+1)
14	2-Cloro-4-[[[(3R,4S)-4-hidroxitetrahidrofurano-3-il]amino]-3-metil-benzonitrilo		253 (M+1)
15	2-Cloro-3-etil-4-[[[(3R,4R)-4-hidroxitetrahidrofurano-3-il]amino]benzonitrilo		267 (M+1)

**Preparación 46**

2-Cloro-3-metil-4-[(3-oxotetrahidropiran-4-il)amino]benzonitrilo



5

A una solución de cloruro de oxalilo (1,22 ml, 14,1 mmol) en diclorometano (15 ml) a -60 °C se le añadió gota a gota una solución de sulfóxido de dimetilo (2,08 ml, 29,3 mmol) en diclorometano (15 ml) y se agitó a -60 °C durante 15 min. Se añadió *trans*-2-cloro-4-[(3-hidroxitetrahidropiran-4-il)amino]-3-metil-benzonitrilo (3,13 g, 11,7 mmol, Ejemplo 9) en diclorometano (30 ml) a la solución y se agitó a -60 °C durante 30 min. Se añadió trietilamina (9 ml, 64,5 mmol) y la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. La mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó dos veces con ácido clorhídrico 1 N. La porción orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto en forma de un semisólido de color naranja (2,53 g, 81 %). CL-EN/EM m/z 265,2 (M+1).

El oxotetrahidropirano u oxotetrahidrofuranos de la Tabla 7 a continuación, se prepararon esencialmente siguiendo el procedimiento descrito en la Preparación 46, usando como material de partida el alcohol apropiado y transcurriendo con de 1,2 a 1,5 eq de cloruro de oxalilo y de 2,5 a 3 eq de DMSO, a -60 a -75 °C en THF.

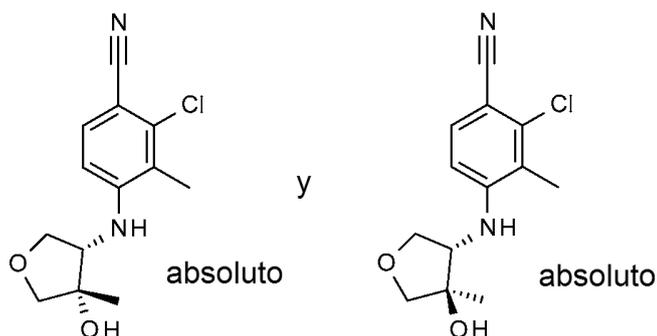
15

Tabla 7

Prep	Nombre químico	Estructura	CL-EN/EM m/z
47	2-Cloro-3-etil-4-[(3-oxotetrahidropiran-4-il)amino]benzonitrilo		278,8 (M+1)
48	2-Cloro-3-metil-4-[[[(3S)-4-oxotetrahidrofuran-3-il]amino]benzonitrilo		249 (M-1)
49	2-Cloro-3-metil-4-[[[(3R)-4-oxotetrahidrofuran-3-il]amino]benzonitrilo		251 (M+1)

**Ejemplos 16 y 17**

5 2-Cloro-4-[[[(3S,4S)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofurano-3-il]amino]-3-metil-benzonitrilo y 2-cloro-4-[[[(3S,4R)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofurano-3-il]amino]-3-metil-benzonitrilo



10 Una solución de 2-cloro-3-metil-4-[[[(3S)-4-oxotetrahidrofuran-3-il]amino]benzonitrilo (148 mg, 0,590 mmol) en THF (2,4 ml) a 0 °C se trató con bromuro de metilmagnesio (0,49 ml, 1,50 mmol, 3 M en éter dietílico) gota a gota en atmósfera de nitrógeno. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La reacción se interrumpió con cloruro de amonio acuoso saturado (5 ml) y se extrajo con EtOAc (40 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para proporcionar 143 mg del producto en bruto. El producto en bruto se purificó en gel de sílice (24 g, EtOAc al 5-80 %/hexanos) para proporcionar los compuestos del título.

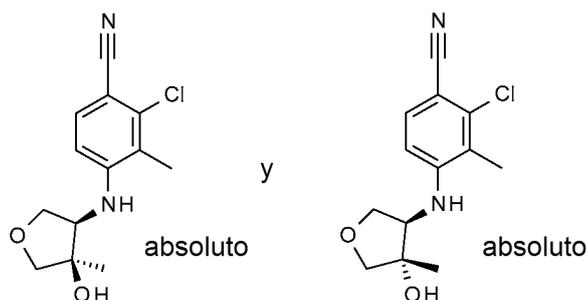
15 Ejemplo 16, isómero 3S,4S: El primero en eluir de la columna fue el isómero 3S,4S que se aisló en forma de una película de color amarillo (25 mg, 16 %). Su diastereomerismo y, por tanto, su estereoquímica absoluta se determinaron por análisis por RMN. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,35 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,37 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 5,10 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 7,1, 9,0 Hz, 1H), 3,88 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 3,77 (dt, J = 9,9, 5,6 Hz, 2H), 3,62

(dd,  $J = 7,0, 9,0$  Hz, 1H), 2,34-2,30 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 1,44 (s, 3H). CL-EN/EM  $m/z$  267 (M+1).

**Ejemplo 17, isómero 3S,4R:** El segundo en eluir de la columna fue el isómero 3S,4R que se aisló en forma de una película de color castaño (48 mg, 30 %). RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,40-7,38 (m, 1H), 6,72-6,70 (m, 1H), 4,48-4,44 (m, 1H), 4,14-4,13 (m, 1H), 4,06-4,04 (m, 1H), 3,86-3,83 (m, 1H), 3,72 (d,  $J = 9,8$  Hz, 1H), 3,64-3,59 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,14 (s, 1H), 1,31 (s, 3H). CL-EN/EM  $m/z$  267 (M+1).

### Ejemplos 18 y 19

2-Cloro-4-[[[(3R,4R)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofurano-3-il]amino]-3-metil-benzonitrilo y 2-cloro-4-[[[(3R,4S)-4-hidroxi-4-metil-tetrahidrofurano-3-il]amino]-3-metil-benzonitrilo



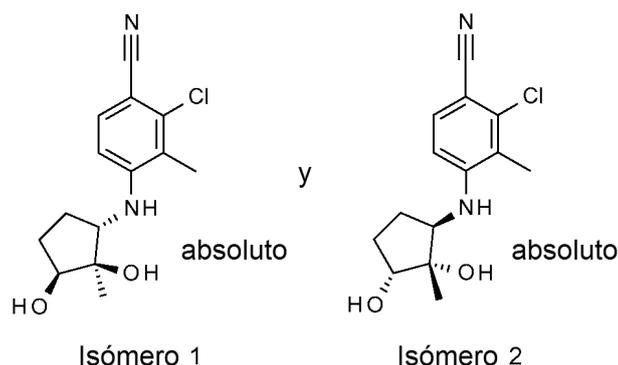
Los compuestos del título se prepararon siguiendo esencialmente el procedimiento que se ha descrito para los Ejemplos 16 y 17, usando 2-cloro-3-metil-4-[[[(3R)-4-oxotetrahidrofuran-3-il]amino]benzonitrilo. El producto en bruto se purificó en gel de sílice (EtOAc al 5-80 %/hexanos).

**Ejemplo 18, isómero 3R,4R:** El primer isómero en eluir de la columna fue el isómero 3R,4R que se aisló en forma de un sólido de color blanco (60 mg, 7 %). Su diastereomerismo y, por tanto, su estereoquímica absoluta se determinaron por análisis por RMN. H-RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,35 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 6,37 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 5,25-5,24 (m, 1H), 4,28 (dd,  $J = 7,1, 9,0$  Hz, 1H), 3,88 (d,  $J = 9,9$  Hz, 1H), 3,79-3,75 (m, 2H), 3,62 (dd,  $J = 6,9, 9,0$  Hz, 1H), 2,26 (s, 3H), 1,44 (s, 3H). CL-EN/EM  $m/z$  267 (M+1).

**Ejemplo 19, isómero 3R,4S:** El segundo isómero en eluir de la columna fue el isómero 3R,4S que se aisló en forma de un sólido de color blanco (115 mg, 13 %). RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,38 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 6,71 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 4,45 (dd,  $J = 6,2, 9,6$  Hz, 1H), 4,14-4,09 (m, 1H), 4,04-3,99 (m, 1H), 3,84 (d,  $J = 9,9$  Hz, 1H), 3,71 (d,  $J = 9,8$  Hz, 1H), 3,63-3,60 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,04 (s, 1H), 1,31 (s, 3H). CL-EN/EM  $m/z$  267 (M+1).

### Ejemplos 20 y 21

2-Cloro-4-[[[(1S,2R,3S)-2,3-dihidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (Isómero 1) y 2-Cloro-4-[[[(1R,2S,3R)-2,3-dihidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo (Isómero 2)



El compuesto del título protegido con TBDPS se preparó esencialmente siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, usando *reI*-(1S,2R,5R)-2-amino-5-(*terc*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol (9,84 g, 26,62 mmol, Preparación 44) y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (3,42 g, 20,17 mmol). Una solución 0,2 M del producto en bruto en THF se trató con TBAF (30,25 ml, 30,25 mmol, 1,0 M en THF) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se trató con agua, se concentró al vacío y se extrajo en EtOAc. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó en gel de sílice (EtOAc al 25-75 %/hexanos) para proporcionar el compuesto del título racémico en forma de un sólido de color amarillo pálido (3,27 g, 58 %). El análisis por RMN indicó la estereoquímica relativa mostrada. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7,48 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 6,89 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 5,60-5,58 (m, 1H), 4,74 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 4,27 (s, 1H), 3,82-3,80 (m, 1H), 3,55-3,53 (m, 1H), 3,29 (s, 1H), 3,15 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 2,20 (s, 3H), 2,04-2,01 (m, 1H), 1,86-1,84 (m, 1H), 1,64-1,61 (m, 2H), 0,95 (s, 3H). CL-EN/EM  $m/z$  281 (M+1).

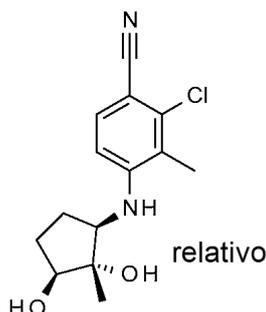
El compuesto se disolvió en isopropanol y cloroformo (2:1). Los enantiómeros se separaron en inyecciones de 150 mg mediante cromatografía de fluidos supercríticos en una columna CHIRALPAK® AD-H (0,5 x 1,5 cm). Fase móvil: isopropanol al 30 %/dióxido de carbono. Caudal: 300 ml/min. Detección: 290 nm. El primer pico en eluir se obtuvo como Isómero 1 y el segundo pico en eluir se obtuvo como Isómero 2. El exceso enantiomérico se determinó por CFS en una columna CHIRALPAK® AD-H (4,6 x 100 mm) usando isopropanol al 20 %/dióxido de carbono. Detección: 215 nm.

**Ejemplo 20, (isómero 1 - 1S,2R,3S)** Se aisló en forma de un sólido de color blanco (1,5 g, 27 %).  $T_R = 1,80$  min, > 99 % ee. CL-EN/EM m/z 281 (M+1).

**Ejemplo 21, (isómero 2 - 1R,2S,3R)** Se aisló en forma de un sólido de color blanco (1,4 g, 25 %).  $T_R = 2,75$  min, > 99 % ee. CL-EN/EM m/z 281 (M+1). La esteoquímica absoluta (1R,2S,3R) del Isómero 2 se determinó por rayos X de co-cristal de RA como se ha representado anteriormente para el dibujo del Ejemplo 21.

### Ejemplo 22

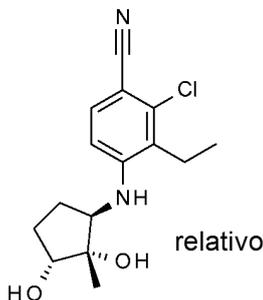
*rel*-2-Cloro-4-[[[(1R,2S,3S)-2,3-dihidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo



El compuesto del título se preparó esencialmente siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, usando *rel*-(1S,2R,5S)-2-amino-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol (409 mg, 1,1 mmol, Preparación 43) y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (142 mg, 0,84 mmol). Una solución 0,2 M del producto en bruto en THF se trató con fluoruro de tetrabutilamonio (1,3 ml, 1,3 mmol, 1,0 M en THF) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se trató con agua, se concentró al vacío y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El material resultante se purificó en gel de sílice (EtOAc al 25-100 %/hexanos) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido (15 mg, 6 %). La esteoquímica relativa se determinó por estudios de RMN. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,47 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 6,78 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 5,60-5,57 (m, 1H), 4,98 (d,  $J = 4,2$  Hz, 1H), 4,68 (s, 1H), 3,73-3,70 (m, 2H), 2,12 (s, 3H), 2,09-2,09 (m, 2H), 1,69-1,67 (m, 1H), 1,52-1,49 (m, 1H), 1,07 (s, 3H). CL-EN/EM m/z 281 (M+1).

### Ejemplo 23

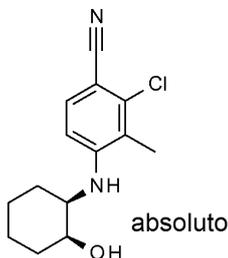
*rel*-2-Cloro-4-[[[(1R,2S,3R)-2,3-dihidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-etil-benzonitrilo



El compuesto del título se preparó siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en el Ejemplo 20, usando *rel*-(1S,2R,5R)-2-amino-5-(*tert*-butil(difenil)silil)oxi-1-metil-ciclopentanol y 2-cloro-3-etil-4-fluoro-benzonitrilo para la reacción de sustitución seguido de la retirada de TBDPS con TBAF. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,44 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 6,87 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 5,74-5,70 (m, 1H), 4,74 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 4,27 (s, 1H), 3,82-3,79 (m, 1H), 3,58-3,51 (m, 1H), 2,80-2,78 (m, 2H), 2,03-2,02 (m, 1H), 1,88-1,86 (m, 1H), 1,69-1,68 (m, 1H), 1,52-1,51 (m, 1H), 1,01-0,97 (m, 3H), 0,93 (s, 3H). CL-EN/EM m/z 295 (M+1).

**Ejemplo 24**

2-Cloro-4-[[[(1R,2S)-2-hidroxiciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo



5 Una mezcla de 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (500 mg, 2,95 mmol), diisopropiletilamina (1,29 ml, 7,37 mmol) y clorhidrato de (1S,2R)-2-aminociclohexanol (670 mg, 4,42 mmol, Acros®) se calentó usando un microondas CEM® a 190 °C durante 2 h y 180 °C durante 4 h. La mezcla se diluyó con diclorometano y se lavó con HCl 1 N. La fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó usando cromatografía radial, eluyendo con metanol al 2 %/diclorometano. El producto aislado se recrystalizó con éter y hexano para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (231 mg, 29 %). CL-EN/EM m/z 265,0 (M+1).

10 Los compuestos de la Tabla 8 a continuación se prepararon siguiendo esencialmente el procedimiento descrito en el Ejemplo 24, usando el aminoalcohol quiral apropiado (disponible en el mercado) y 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo.

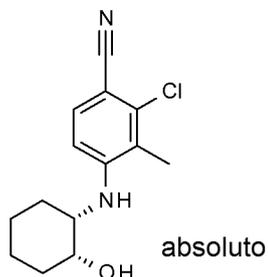
Tabla 8

Ej	Nombre químico	Estructura	CL-EN/EM m/z
25	2-Cloro-4-[[[(1S,2S)-2-hidroxiciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo		265,0 (M+1)
26	2-Cloro-4-[[[(1S,2R)-2-hidroxiciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo		251,2 (M+1)
27	2-cloro-4-[[[(1R,2S)-2-hidroxiciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo		251,2 (M+1)

15

**Ejemplo 28**

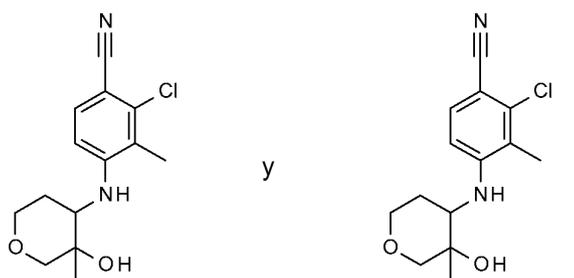
2-Cloro-4-[[[(1S,2R)-2-hidroxiciclohexil]amino]-3-metil-benzonitrilo



5 Una solución de 2-cloro-4-fluoro-3-metil-benzonitrilo (500 mg, 2,95 mmol), clorhidrato de (1R,2S)-2-aminociclohexanol (671 mg, 4,42 mmol, Small Molecules, Inc.) y bicarbonato de sodio (991 mg, 11,8 mmol) en DMSO (14,7 ml) y agua (2,1 ml) se calentó a 130 °C durante 48 h. Después de que se enfriara a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con HCl 1 N y se extrajo dos veces con EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó usando cromatografía radial, eluyendo con metanol al 2 %/diclorometano para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (527 mg, 68 %). CL-EN/EM m/z 265,2 (M+1).

**Ejemplo 29 y 30**

2-Cloro-4-[[[3-hidroxi-3-metil-tetrahidropiran-4-il]amino]-3-metil-benzonitrilo, Diastereómero 1 y 2-Cloro-4-[[[3-hidroxi-3-metil-tetrahidropiran-4-il]amino]-3-metil-benzonitrilo, Diastereómero 2



Diastereómero 1

Diastereómero 2

15 A una solución de 2-cloro-3-metil-4-[(3-oxotetrahidropiran-4-il)amino]benzonitrilo (2,53 g, 9,56 mmol, Preparación 46) en THF (38 ml) a 0 °C se le añadió bromuro de metilmagnesio (9,56 ml, 28,7 mmol, 3 M en éter dietílico) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 1 h, la reacción se interrumpió con cloruro de amonio acuoso saturado. Se añadió EtOAc y la mezcla se lavó con agua. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó usando cromatografía en gel de sílice eluyendo con MeOH al 5 %/diclorometano. El material resultante se volvió a purificar con MeOH al 2 %/diclorometano, después de nuevo con MeOH al 1,5 %/diclorometano para separar los diastereómeros. Cada producto se recrystalizó usando diclorometano y éter para proporcionar los productos del título.

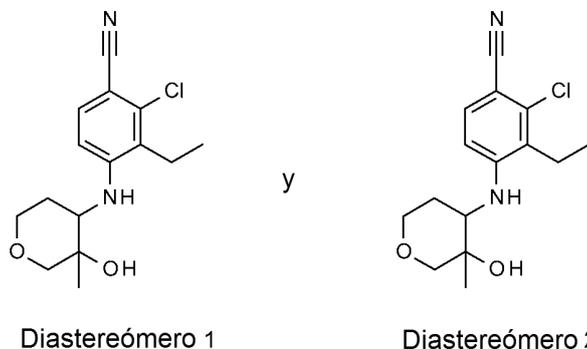
20 **Ejemplo 29, diastereómero 1:** Aislado en forma de un sólido de color blanquecino (549 mg, 21 %). La estereoquímica relativa se desconoce. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,47 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,74-6,72 (m, 1H), 5,04-5,00 (m, 1H), 4,95 (s, 1H), 3,80-3,75 (m, 1H), 3,58-3,54 (m, 2H), 3,42-3,38 (m, 1H), 3,26 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 2,15 (s, 3H), 1,72-1,69 (m, 2H), 0,94 (s, 3H). LC-EN/EM m/z 281,2 (M+1).

25 **Ejemplo 30, diastereómero 2:** Aislado en forma de un sólido de color blanquecino (300 mg, 11 %). La estereoquímica relativa se desconoce. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,42 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 5,28-5,24 (m, 1H), 4,68 (s, 1H), 3,82-3,78 (m, 1H), 3,61-3,60 (m, 1H), 3,40 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 3,35-3,31 (m, 1H), 3,09 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,77-1,75 (m, 2H), 1,11 (s, 3H). CL-EN/EM m/z 281,2 (M+1).

30

**Ejemplo 31 y 32**

2-Cloro-3-etil-4-[[3-hidroxi-3-metil-tetrahidropiran-4-il]amino]benzonitrilo, Diastereómero 1 y 2-cloro-3-etil-4-[[3-hidroxi-3-metil-tetrahidropiran-4-il]amino]benzonitrilo, Diastereómero 2



5 Los compuestos del título se prepararon como diastereómeros racémicos de una manera análoga a la preparación que se encuentra en los Ejemplos 29 y 30. Los diastereómeros se separaron mediante elución por cromatografía en gel de sílice con MeOH al 1,5 %/diclorometano. Los diastereómeros se purificaron adicionalmente y se separaron usando cromatografía en gel de sílice eluyendo con acetona al 10 %/diclorometano.

10 Ejemplo 31, diastereómero 1: Aislado en forma de un sólido de color blanquecino (551 mg, 19 %). La estereoquímica relativa se desconoce. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,47-7,45 (m, 1H), 6,76-6,73 (m, 1H), 5,16-5,14 (m, 1H), 5,04-4,99 (m, 1H), 3,84-3,81 (m, 1H), 3,60-3,58 (m, 2H), 3,43-3,42 (m, 1H), 3,26-3,23 (m, 1H), 2,71-2,70 (m, 2H), 1,72-1,70 (m, 2H), 1,12-1,02 (m, 3H), 0,95 (s, 3H). CL-EN/EM m/z 295,0 (M+1).

15 Ejemplo 32, diastereómero 2: Aislado en forma de un sólido de color blanquecino (392 mg, 13 %). La estereoquímica relativa se desconoce. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,40 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 5,41-5,38 (m, 1H), 4,69 (s, 1H), 3,86-3,81 (m, 1H), 3,59-3,58 (m, 1H), 3,42-3,38 (m, 1H), 3,34-3,28 (m, 1H), 3,11-3,07 (m, 1H), 2,78-2,75 (m, 2H), 1,81-1,80 (m, 1H), 1,67-1,63 (m, 1H), 1,10 (s, 3H), 1,01 (t, J = 7,4 Hz, 3H). CL-EN/EM m/z 295,0 (M+1).

**Ejemplo 33 y 34**

20 2-Cloro-3-etil-4-[[3-hidroxi-3-metil-tetrahidropiran-4-il]amino]benzonitrilo, Isómero 1 y 2-cloro-3-etil-4-[[3-hidroxi-3-metil-tetrahidropiran-4-il]amino]benzonitrilo, Isómero 2

25 El Ejemplo 32 (Diastereómero 2) se disolvió en metanol/diclorometano 2:1 (9 ml) y se separó en inyecciones de 1000 µl mediante cromatografía de fluidos supercríticos en una columna AD-H CHIRALPAK® (2,1 x 15 cm, 5 µm). Fase móvil: etanol al 25 %/dióxido de carbono. Caudal: 70 ml/min. Detección: 225 nm. Cada desarrollo fue de 3,5 min. El primer pico en eluir se obtuvo como Isómero 1 y el segundo pico en eluir se obtuvo como Isómero 2. El exceso enantiomérico se determinó por CFS en una columna CHIRALPAK® AD-H (2,1 x 15 cm, 5 mm) usando 25 % de etanol/dióxido de carbono. Caudal: 5 ml/min. Detección: 225 nm.

Ejemplo 33, Isómero 1: Se aisló en forma de una espuma de color blanco (256 mg, 49 %). T<sub>R</sub> = 1,14 min, 99 % ee.

30 Ejemplo 34, Isómero 2: Se aisló en forma de una espuma de color blanco (221 mg, 42 %) T<sub>R</sub> = 1,86 min, 99 % ee. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,47-7,45 (m, 1H), 6,76-6,73 (m, 1H), 5,16-5,14 (m, 1H), 5,04-4,99 (m, 1H), 3,84-3,81 (m, 1H), 3,60-3,58 (m, 2H), 3,43-3,42 (m, 1H), 3,26-3,23 (m, 1H), 2,71-2,70 (m, 2H), 1,72-1,70 (m, 2H), 1,12-1,02 (m, 3H), 0,95 (s, 3H). CL-EN/EM m/z 295,0 (M+1).

**Ensayo de unión al receptor nuclear de hormonas esteroideas**

35 Se usaron lisados celulares de células HEK293 de riñón embrionario humano que sobreexpresan RM humano (receptor de mineralocorticoides), RG (receptor de glucocorticoides), RA (receptor de andrógenos) o RP (receptor de progesterona) para ensayos de unión competitiva receptor-ligando para determinar valores de k<sub>i</sub>. Los procedimientos habituales se proporcionan a continuación.

40 Brevemente, se realizaron ensayos de unión competitiva a receptores de esteroides en un tampón que contenía tampón HEPES 20 mM (pH = 7,6), EDTA 0,2 mM, NaCl 75 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, glicerol al 20 %, molibdato de sodio 20 mM, DTT 0,2 mM, aprotinina 20 mg/ml y leupeptina 20 mg/ml (tampón de ensayo). Normalmente, los ensayos de unión a receptores de esteroides incluyeron ligandos radiomarcados, tales como [<sup>3</sup>H]-aldosterona 0,25 nM para la unión a RM, [<sup>3</sup>H]-dexametasona 0,3 nM para la unión a RG, [<sup>3</sup>H]-metiltienolona 0,36 nM para la unión a RA y [<sup>3</sup>H]-metiltienolona 0,29 nM para la unión a RP, y o bien 20 µg de lisado 293-MR, 20 µg de lisado de 293-GR, 22 µg de lisado de 293-AR o 40 µg de lisado 293-PR por pocillo. Los ensayos se realizaron normalmente en formato de 96 pocillos. Los compuestos de ensayo que competían se añadieron a diversas concentraciones que variaban de aproximadamente 0,01 nM a 10 µM. La unión no específica se determinó en presencia de aldosterona 500 nM para la unión a RM de unión, dexametasona 500 nM para la unión a RG o metiltienolona 500 nM para la unión a RA y RP. Las reacciones de unión (140 ml) se incubaron durante la noche a 4 °C, después se añadieron a cada reacción

70  $\mu$ l de tampón de carbón vegetal-dextrano frío (que contenía por 50 ml de tampón de ensayo, 0,75 g de carbón vegetal y 0,25 g de dextrano). Las placas se mezclaron durante 8 min en un agitador orbital a 4 °C. Las placas se centrifugaron a 3000 rpm a 4 °C durante 10 min. Una parte alícuota de 120  $\mu$ l de la mezcla de reacción de unión se transfirió después a otra placa de 96 pocillos y se añadieron 175  $\mu$ l de fluido de centelleo Wallac Optiphase Hisafe 3™ a cada pocillo. Las placas se cerraron herméticamente y se agitaron vigorosamente en un agitador orbital. Después de una incubación de 2 h, las placas se leyeron en un contador Wallac MICROBETA®.

Los datos se usaron para calcular una  $CI_{50}$  estimado y el porcentaje de inhibición a 10  $\mu$ M. La  $K_d$  para [ $^3$ H]-aldosterona para la unión a RM, [ $^3$ H]-dexametasona para la unión a RG, [ $^3$ H]-metiltienolona para la unión a RA o [ $^3$ H]-metiltienolona para la unión a RP, se determinó mediante la unión de saturación. Los valores de  $CI_{50}$  para los compuestos se convirtieron en  $K_i$  usando la ecuación de Cheng Prushoff.

Los compuestos de los Ejemplos del presente documento se sometieron a ensayo esencialmente como se ha descrito anteriormente y presentaron un valor de  $K_i$  para RA inferior a 1  $\mu$ M. Los siguientes compuestos ejemplificados de la invención se sometieron a ensayo esencialmente como se ha descrito anteriormente y presentaron la siguiente afinidad para RA como se ilustra en la Tabla 9 a continuación.

Tabla 9

Ej	RA ( $K_i$ nM)	RG ( $K_i$ nM)	RM ( $K_i$ nM)	RP ( $K_i$ nM)
1	2,03	>6020	1450	872
2	0,684	462	1.840	448
5	16,9	>3120	415	520
16	5,21	2390	>7010	1220
20	38,1	>5730	>7150	>7960
32	162	>5820	3960	4290

Los datos de la Tabla 9 muestran que los compuestos de la Tabla 9 son ligandos potentes y selectivos para el RA.

#### Ensayo de indicador AR/ARE C2C12

Como indicador de la actividad agonista en el tejido muscular, se realizó el ensayo de indicador AR/ARE C2C12. Brevemente, las células C2C12 de mioblasto de ratón se cotransfectaron usando el reactivo Fugene™. Se transfectó un plásmido indicador que contenía GRE/ARE (elemento de respuesta a glucocorticoides/elemento de respuesta a andrógenos) y un promotor de TK aguas arriba del ADNc del indicador de la luciferasa, con un plásmido que expresaba constitutivamente el receptor de andrógenos humano (RA) usando un promotor de CMV viral. Las células se transfectaron en matraces de 150  $cm^2$  en medio DMEM con CS-FBS al 4 %. Después de 5 h de incubación, se tripsinizaron las células transfectadas, se sembraron en placas de 96 pocillos en medio DMEM que contenía CS-FBS al 4 %, se incubaron durante 2 h y después se expusieron a diversas concentraciones de compuestos de ensayo que variaban de aproximadamente 0,0 nM a 10  $\mu$ M. Después de 24 h de incubaciones con compuestos, las células se lisaron y se determinó la actividad luciferasa mediante técnicas convencionales. Los datos se ajustaron a una logística de ajuste de 4 parámetros para determinar los valores de  $CE_{50}$ . El % de eficacia se determinó frente a la estimulación máxima obtenida con metiltienolona 10 nM.

Pueden diseñarse fácilmente ensayos funcionales de modulación de receptores hormonales nucleares de hormonas esteroideas similares a los descritos anteriormente por el experto en la materia. Los compuestos de los Ejemplos del presente documento se sometieron a ensayo esencialmente como se ha descrito anteriormente como se ilustra en la Tabla 10 a continuación.

Tabla 10

Ej	$CE_{50}$ de C2C12 de RA (nM)
1	0,499 (n = 10)
2	0,0398 (n = 6)
5	4,88
16	73,7
20	146
32	274

Los datos de la Tabla 10 demuestran que los compuestos de la Tabla 10 son un agonista del RA humano.

### Modelo *in vivo* de eficacia y selectividad

La atrofia muscular con sarcopenia inducida por hipogonadismo puede producirse como resultado de diferentes patologías que incluyen el envejecimiento, la caquexia por cáncer, la sepsis, la denervación, el desuso, la inactividad, quemaduras, VIH-síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), insuficiencia renal o cardíaca crónica, descarga/microgravedad y distrofias musculares etc. La secuencia de acontecimientos que conduce a la pérdida de músculo en estas diversas afecciones es diferente, pero en conjunto conduce a un desequilibrio entre las vías anabólicas muscular y catabólicas musculares, de manera que hay una pérdida neta en la masa y la función muscular que puede medirse en un modelo retardado de gonadectomía en rata a través de cambios en los pesos en húmedo del músculo elevador del ano (EA) y del músculo perineal del bulbo cavernoso (BC).

Se castraron (gonadectomizaron o "GDX") Ratas Sprague Dawley machos (de 8 semanas de edad) de acuerdo con los procedimientos aprobados (Charles River Labs) y se dejó que se debilitaran durante seis semanas. También se prepararon ratas con operación simulada emparejadas por edad. (Las ratas con operación simulada son animales que han sido expuestos a los mismos procedimientos quirúrgicos que los animales castrados excepto porque sus testículos no se retiraron). Los animales se alojaron en una habitación de temperatura controlada (24 °C) con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas invertido (oscuridad 10:00/22:00) y agua y alimentos disponibles a voluntad.

Para demostrar la eficacia *in vivo*, los compuestos de la presente invención se administraron diariamente mediante aplicación transdérmica a las ratas de 14 semanas de edad castradas (peso corporal de aproximadamente 400-450 g). Los animales se asignaron al azar en función del peso corporal antes de atribuirles un puesto de ensayo, de manera que los pesos corporales de todos los grupos de tratamiento están dentro del 5 % los unos de los otros. Los compuestos de ensayo se administraron a los animales usando vehículos convencionales. Por ejemplo, para la formulación transdérmica, se utilizan etanol al 81,6 %, miristato de isopropilo al 7,6 %, agua al 9,6 %, Carbopol® al 0,4 %, edetol al 0,826 % (etilendiamina-N,N,N',N'-tetra-2-propanol). Las ratas con operación simulada que no recibieron tratamiento se usaron como controles positivos de tratamiento mientras que las ratas castradas tratadas solo con vehículo se usaron como controles negativos de tratamiento.

Los animales de ensayo se trataron por vía transdérmica durante un período de tiempo de dos semanas con, por ejemplo, 0,3, 1 o 5 mg/kg/día de un compuesto de la presente invención. Después del tratamiento de dos semanas, como indicador de la actividad, se determinó el peso en húmedo del músculo EA y del músculo BC en el grupo de ensayo y se comparó con el peso en húmedo del EA y el BC del grupo de control castrado de vehículo solo. Los pesos en húmedo de los músculos obtenidos tanto en el grupo de ensayo como en el grupo con vehículo solo se normalizaron con respecto al peso corporal total. Como indicador de la actividad selectiva tisular, el peso en húmedo de la próstata (P) de animales de ensayo se comparó de manera similar con el peso en húmedo de las próstatas del grupo de control simulado. De nuevo, los pesos en húmedo de las próstatas obtenidas tanto del grupo de ensayo como del grupo de control simulado se normalizaron con respecto al peso corporal total.

Los valores de porcentaje de eficacia (% de Ef.) pueden determinarse como se indica a continuación: % de Ef. = ((Peso húmedo de EA o BC o P en animal de ensayo/peso corporal total del animal de ensayo) / (peso en húmedo de EA o BC o P en animal de control/peso corporal total del animal control)) × 100.

Siguiendo los procedimientos esencialmente como se ha descrito anteriormente, el compuesto del Ejemplo 1 presentó la siguiente actividad en el modelo de eficacia y selectividad en rata *in vivo* anteriormente mencionado como se muestra en la Tabla 11 a continuación:

Tabla 11

Dosis (mg/kg/d), vía	Peso de EA % de eficacia frente al control (GDX) (ensayo de la t de Dunnett, p < 0,05)	Peso de BC % de eficacia frente al control (GDX) (ensayo de la t de Dunnett, p < 0,05)	Peso de P % de eficacia frente al control (SIMULADO) (ensayo de la t de Dunnett, p < 0,05)
0,03, TD	114,6	106,2	3,9
0,3, TD	212,5	204,4	7,3
1, TD	237,2	272,6	11,8
5, TD	233,8	295,1	12,1

TD = vía de administración transdérmica; EA = músculo elevador del ano ; BC = músculo del bulbo cavernoso; P = próstata; GDX = gonadectomizado

De forma similar, el compuesto del Ejemplo 2 presenta la siguiente actividad en el modelo de eficacia y selectividad en rata *in vivo* anteriormente mencionado como se

muestra en la Tabla 12 a continuación:

Tabla 12

Dosis (mg/kg/d), vía	Peso de EA % de eficacia frente al control (GDX) (ensayo de la t de Dunnett, p < 0,05)	Peso de BC % de eficacia frente al control (GDX) (ensayo de la t de Dunnett, p < 0,05)	Peso de P % de eficacia frente al control (SIMULADO) (ensayo de la t de Dunnett, p < 0,05)
0,01, TD	130,6	100,0	3,8
0,1, TD	230,7	199,1	7,2
1, TD	328,7	353,0	24,7
5, TD	340,6	386,5	29,0

TD = vía de administración transdérmica; EA = músculo elevador del ano ; BC = músculo del bulbo cavernoso; P = próstata; GDX = gonadectomizado

- 5 En conjunto, estos resultados demuestran que el Ejemplo 1 y el Ejemplo 2 son moduladores selectivos del receptor de andrógenos (SARM) que presentan un aumento dependiente de la dosis de los músculos estriados EA y BC altamente sensibles después de 2 semanas de tratamiento, con una acumulación mínima de riesgo androgénico (aumento en los pesos en húmedo de la próstata) en los mismos animales usando un modelo retardado de gonadectomía en rata.

#### Modelo *in vivo* de disminución del colesterol HDL inducida por moduladores del RA

- 10 Se utilizaron macacas de Java para el presente estudio, que se realizó para evaluar los efectos de los moduladores del receptor de andrógenos sobre el colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad). Se ha demostrado que este modelo animal responde a los andrógenos mediante la disminución del colesterol HDL y se considera predictivo de la misma respuesta en seres humanos (Nantermet P. y col., *Endocrinol* 149(4):1551-61).

- 15 Se alojaron individualmente macacas hembras adultas jóvenes, de aproximadamente 5-8 kg de peso, en una habitación de clima controlado (temperatura  $72 \pm 8$  °F ( $22,22 \pm 4,45$  °C) y una humedad relativa del 30 %-70 %) con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y agua y comida disponibles a voluntad. Los compuestos de la presente invención se administraron a diario mediante aplicación tópica a 6 macacas/compuesto durante 2 semanas. Si se sometió a ensayo más de un compuesto en un estudio dado, las macacas se asignaron a grupos de manera que cada grupo tuviera pesos corporales similares. Se rasuraron dos sitios de aplicación en la parte posterior del cuello y el compuesto se aplicó mediante la extensión sobre una zona rasurada usando una jeringuilla de 1 ml con una aguja de calibre 16. La aplicación diaria se alternó entre los dos sitios para minimizar la posibilidad de irritación de la piel.
- 20 Los compuestos de ensayo se administraron a los animales usando vehículos adecuados para la aplicación tópica tales como una combinación de etanol al 81,6 %, IPM al 7,6 %, agua al 9,6 %, Carbopol® al 0,4 % y edetol al 0,826 % (etilendiamina-N,N,N',N 'tetra-2-propanol). El volumen de dosis convencional era de 0,15 ml/kg.

- 25 Antes del inicio de la administración, se extrajo sangre de las macacas en al menos 2 días, después de un ayuno durante la noche, con el fin de establecer un valor basal para los parámetros de patología clínica (definidos como un panel Chem18 + HDL, que incluye parámetros de química clínica de hematología y suero). El primer día de administración se definió como el Día 1. También se extrajo sangre tres veces durante el curso del estudio de 14 días (por ejemplo, en los días 3, 7 y 13) para la evaluación del panel Chem18 + HDL usando el Roche Systems Analyzer. Los animales se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de este procedimiento. Las macacas se observaron a diario para detectar anomalías (incluyendo la irritación de la piel) y signos de dolor o malestar. Los pesos corporales se recogieron antes de la dosis y cerca de la finalización del estudio. También se recogió sangre para la evaluación de los criterios de valoración farmacocinéticos, para confirmar la exposición en los Días 1 y 14. Se determinaron parámetros adicionales para evaluar la salud de los animales.

- 35 Siguiendo los procedimientos esencialmente como se ha descrito anteriormente, el compuesto del Ejemplo 1 presentó la siguiente actividad en el modelo *in vivo* en macacas de disminución de HDL anteriormente mencionado después de 3, 7 y 14 dosis, como se muestra en la Tabla 13 a continuación. Los datos de colesterol HDL se expresaron como porcentaje de disminución con respecto a la media aritmética de dos determinaciones de valores basales antes de la dosificación.

40

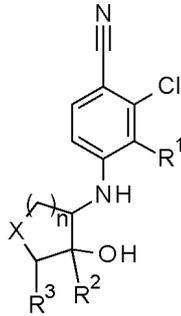
Tabla 13

Dosis (mg/kg/día)	Después de 3 dosis (%)	Después de 7 dosis (%)	Después de 14 dosis (%)
0,035	13	7,1	10
0,18	16	29	33

Estos datos demuestran que la entrega transdérmica del compuesto del Ejemplo 1 tiene un efecto mínimo sobre el HDL en macacos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



en la que

- 5 n es 1 o 2;  
 X es -CH₂- o -O-;  
 R¹ es -CH₃ o -CH₂-CH₃;  
 R² es -H o -CH₃;  
 R³ es -H o -OH;

- 10 en la que R³ es -H cuando X es -O-;  
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de la Reivindicación 1 de fórmula:

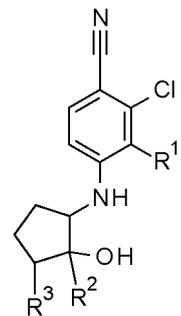


en la que

- 15 n es 1 o 2;  
 R¹ es -CH₃ o -CH₂-CH₃;  
 R² es -H o -CH₃;  
 R³ es -H o -OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

- 20 3. Un compuesto de la Reivindicación 1 o 2 de fórmula:



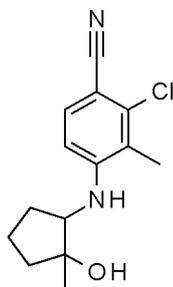
en la que

- R¹ es -CH₃ o -CH₂-CH₃;

R<sup>2</sup> es -H o -CH<sub>3</sub>;  
R<sup>3</sup> es -H o -OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

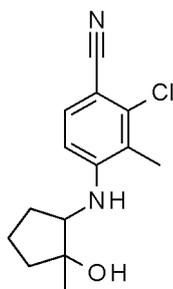
4. Un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 de fórmula:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

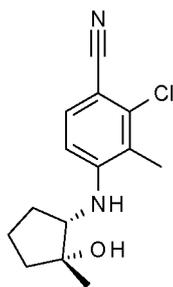
5. Un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 que tiene la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 6. Un compuesto de la Reivindicación 5 que es 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metilciclopentil]amino]-3-metilbenzonitrilo.

7. Un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 que tiene la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 8. Un compuesto de la Reivindicación 7 que es 2-cloro-4-[[[(1S,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metilbenzonitrilo.

9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 10. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 9, que se formula como un parche.

11. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 9, que se formula como un gel tópico.

12. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 9, que se formula como una crema tópica.

13. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 9, que se formula como una pulverización tópica.

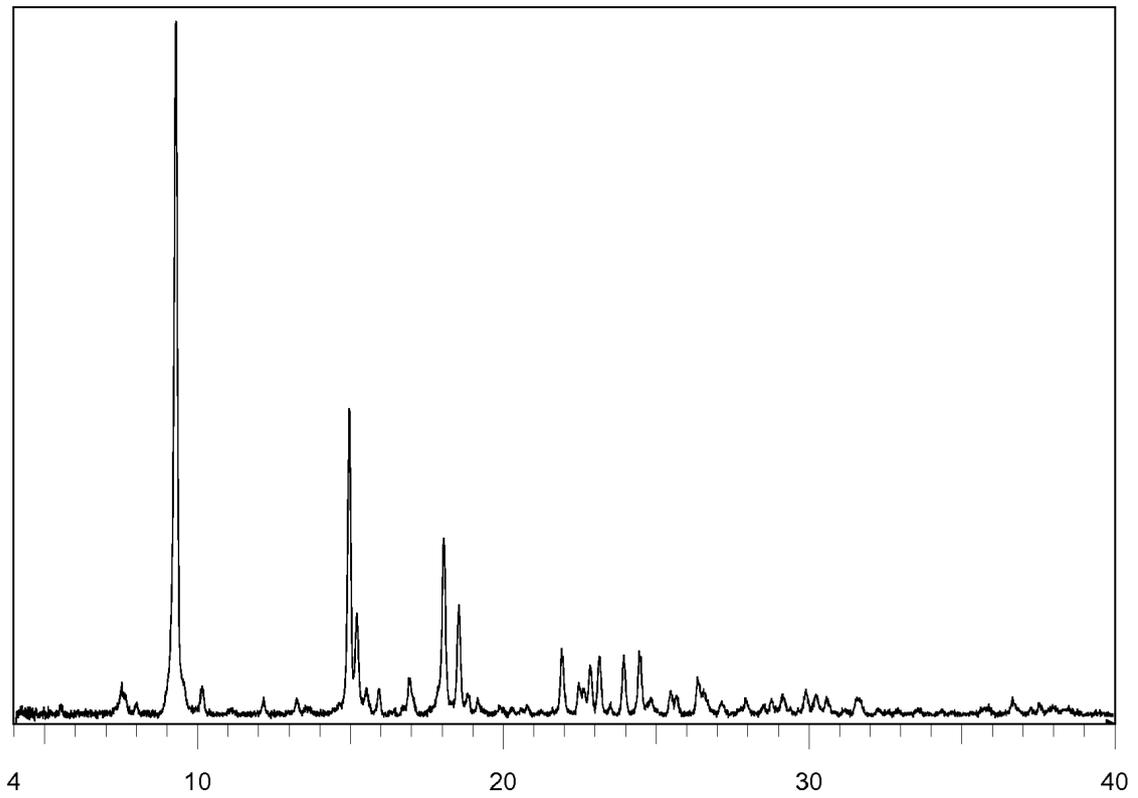
14. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 9 que comprende un solvato.

15. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 14 que es 2-cloro-4-[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo • solvato de etanol en forma cristalina **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo obtenido a partir de una fuente de  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = X \text{ \AA}$ ) que comprende picos a:

- 5      a) 7,00, 17,26, 12,30 y 23,34 +/- -0,2 en  $2\theta$ ; o  
      b) 7,00, 8,59, 12,30, 16,76, 17,26 y 23,34 +/- -0,2 en  $2\theta$ ; o  
      c) 7,00, 8,59, 10,13, 11,89, 12,30, 12,91, 13,95, 16,76, 17,26, 23,34 +/- -0,2 en  $2\theta$ .

16. Un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

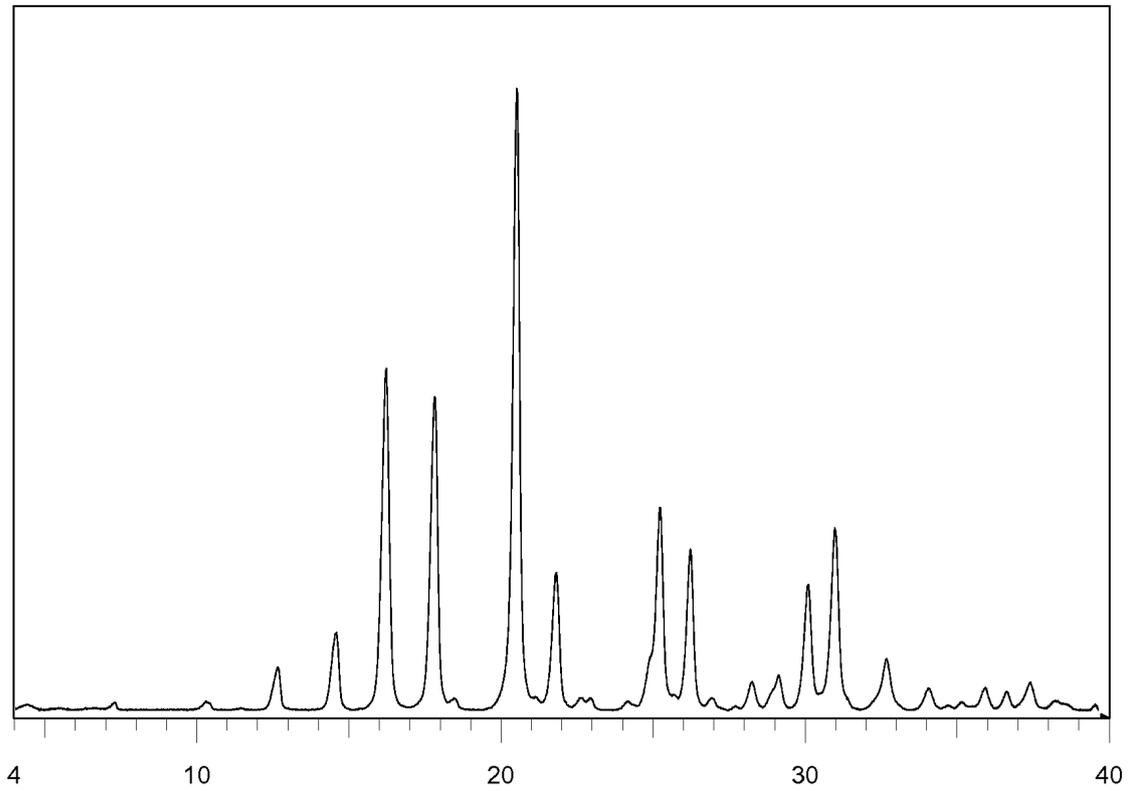
- 10     17. Un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la atrofia muscular.



2-Teta

Patrón de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo 1C, Forma cristalina 1 de 2-cloro-4-  
[[[(1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

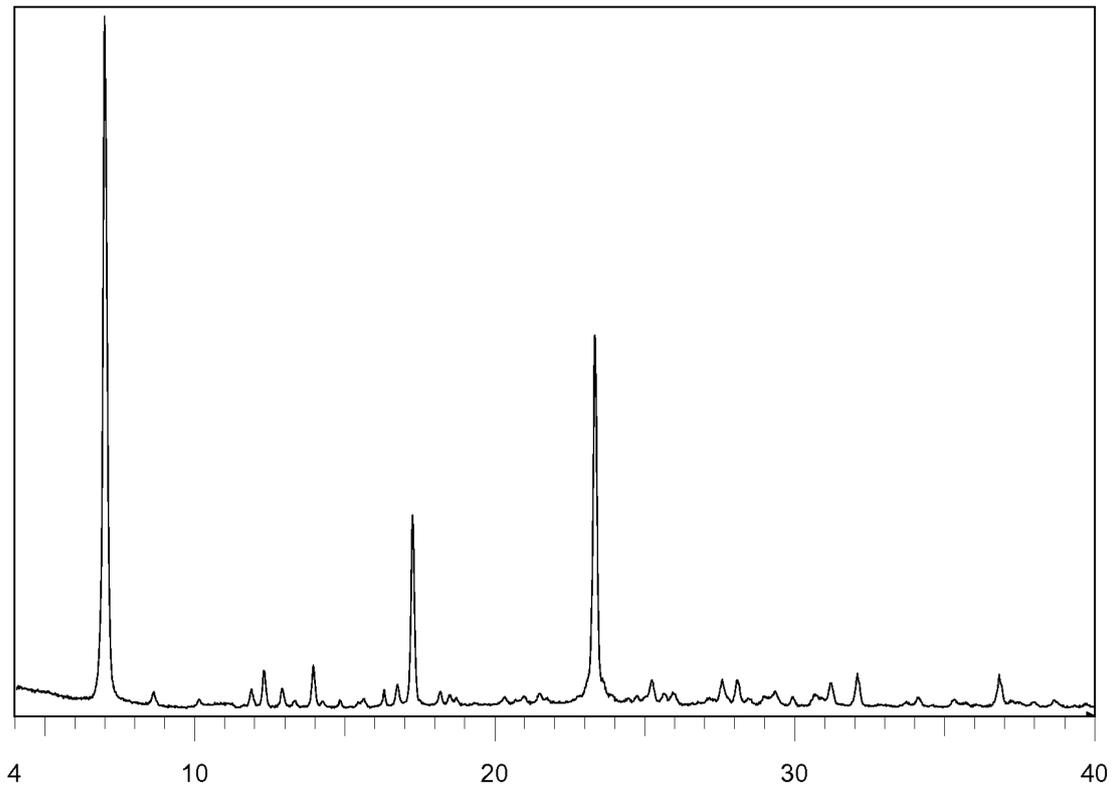
**Figura 1 de 4**



2-Teta

Patrón de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo 1D, Forma cristalina 2 de 2-cloro-4-  
[[*(1R,2R)*-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

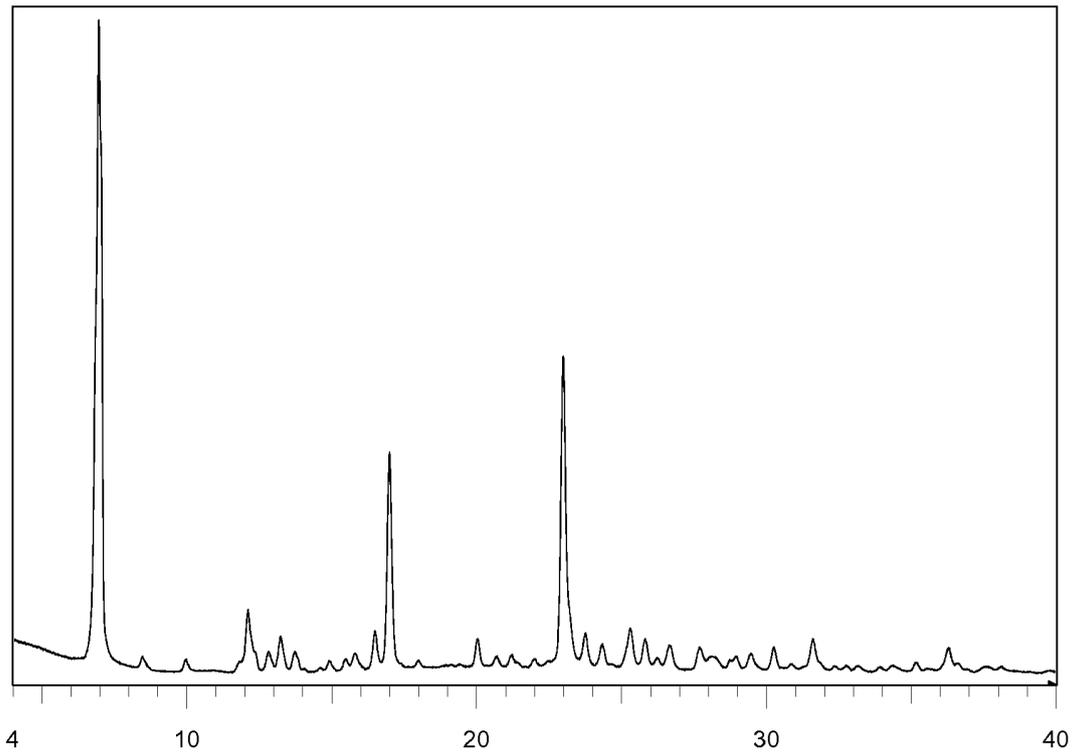
**Figura 2 de 4**



2-Teta

Patrón de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo 1E, solvato de etanol cristalino de 2-cloro-4-  
[[ (1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

**Figura 3 de 4**



2-Teta

Patrón de difracción de rayos X de polvo del Ejemplo 1F, solvato de isopropanol cristalino de 2-cloro-4-  
[[ (1R,2R)-2-hidroxi-2-metil-ciclopentil]amino]-3-metil-benzonitrilo

**Figura 4 de 4**