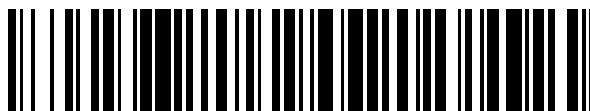


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 812**

51 Int. Cl.:

C07D 211/60 (2006.01)

A61K 31/45 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.06.2013 PCT/US2013/046684**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.01.2014 WO14004229**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2013 E 13734248 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2017 EP 2867207**

54 Título: **Compuestos de fenoxietil piperidina**

30 Prioridad:

29.06.2012 US 201261665951 P
13.03.2013 US 201361779099 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.11.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

SCHIFFLER, MATTHEW ALLEN y
YORK, JEREMY SCHULENBURG

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 644 812 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).

La presente invención se refiere a compuestos de fenoxietilpiperidina novedosos, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, al uso de los compuestos para tratar trastornos fisiológicos y a intermedios y procedimientos útiles en la síntesis de los compuestos.

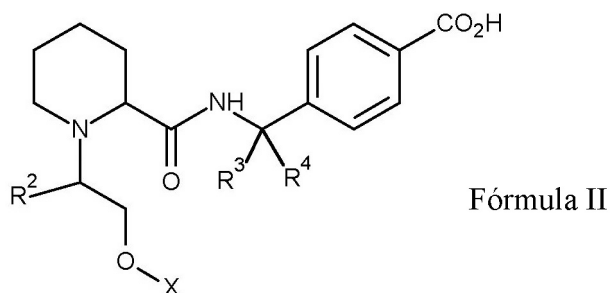
La presente invención está en el campo del tratamiento de afecciones inflamatorias, tales como artritis, incluyendo artrosis y artritis reumatoide, e incluyendo además dolor asociado a estas afecciones. La artritis afecta a millones de pacientes solo en los Estados Unidos y es una causa principal de incapacidad. Los tratamientos incluyen a menudo AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroideos) o inhibidores de COX-2, que pueden producir efectos secundarios cardiovasculares y/o gastrointestinales indeseados. Como tales, los pacientes que tienen un mal perfil cardiovascular, tal como hipertensión, pueden excluirse de usar AINE o inhibidores de COX-2. Por tanto, existe la necesidad de un tratamiento alternativo de artrosis y artritis reumatoide, preferiblemente sin los efectos secundarios de los tratamientos actuales.

Se han identificado 4 subtipos de receptor de prostaglandina E₂ (PGE₂) como los siguientes: EP1, EP2, EP3 y EP4. Se ha divulgado que EP4 es el receptor primario implicado en el dolor inflamatorio de articulaciones en modelos de roedor de artritis reumatoide y artrosis (véase, por ejemplo, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 325, 425 (2008)). Por ello, un antagonista selectivo de EP4 puede ser útil para tratar la artritis, incluyendo dolor artrítico. Además, se ha sugerido que puesto que el antagonismo de EP4 no interfiere con la biosíntesis de prostanoïdes, tales como PGI₂ y TxA₂, un antagonista selectivo de EP4 puede no poseer los efectos secundarios cardiovasculares potenciales observados con AINE e inhibidores de COX2 (véase, por ejemplo, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 484 (2011)).

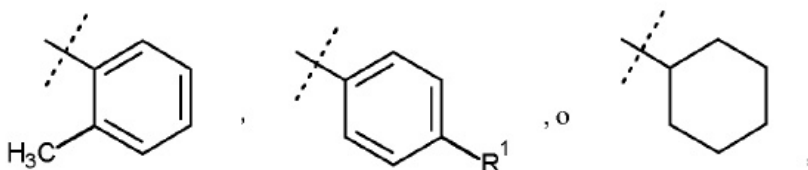
El documento WO 2013/004290 divulga derivados de amina cíclicos como antagonistas del receptor EP4. El documento US 2005/0250818 divulga ciertos compuestos de arilamida y heteroarilamida orto-sustituídos que son antagonistas selectivos del receptor EP4 con actividad analgésica. Además, el documento WO 2011/102149 divulga ciertos compuestos que son antagonistas selectivos de EP4 que son útiles en el tratamiento de enfermedades mediadas por IL-23. El documento WO 2005/105732 divulga ciertos compuestos de metilarilamida o heteroarilamida sustituidos como antagonistas del receptor E₂ de prostaglandina.

La presente invención proporciona compuestos novedosos que son inhibidores selectivos de EP4 respecto a EP1, EP2 y EP3. Además, la presente invención proporciona compuestos novedosos con el potencial de efectos secundarios cardiovasculares o gastrointestinales reducidos en comparación con AINE tradicionales.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula II:



en la que X es:



R¹ es H, -CN o F:

R² es H o metilo

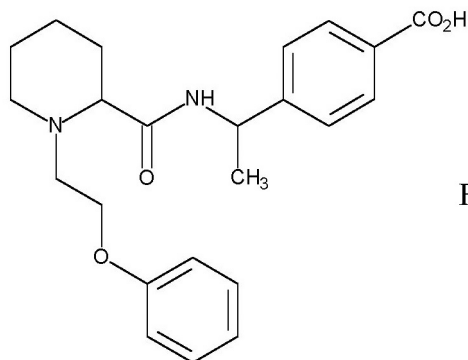
 R^3 es H ; y

R⁴ es H, metilo o etilo; o

R³ y R⁴ unidos conjuntamente un anillo ciclopropilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona además un compuesto de Fórmula I:



Fórmula I

5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona también un compuesto de Fórmula I o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia, en particular para el tratamiento de artrosis. Además, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de artritis reumatoide. La invención proporciona también un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de dolor asociado a artrosis o artritis reumatoide. Además, la invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de artrosis. La invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide. La presente invención proporciona también el uso de un compuesto de Fórmula I o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de dolor asociado a artrosis o artritis reumatoide.

La invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización particular, la composición comprende además uno o más de otros agentes terapéuticos. Esta invención engloba también intermedios y procedimientos novedosos para la síntesis de un compuesto de Fórmula I o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como se usa en la presente memoria, los términos “tratamiento” o “tratar” incluyen prohibir, impedir, retardar, detener o revertir la progresión o gravedad de un síntoma o trastorno existente.

Como se usa en la presente memoria, el término “paciente” hace referencia a un mamífero, tal como un ratón, conejillo de Indias, rata, perro o ser humano. Se entiende que el paciente preferido es un ser humano.

Como se usa en la presente memoria, el término “cantidad eficaz” hace referencia a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que, tras administración de dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento.

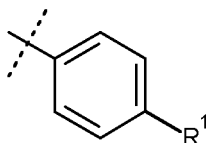
Puede determinarse fácilmente una cantidad eficaz por el diagnosticador a cargo, como especialista en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. En la determinación de la cantidad eficaz para un paciente, se consideran una serie de factores por el diagnosticador a cargo incluyendo: la especie de mamífero; su tamaño, edad y salud general; la enfermedad o trastorno específico implicado; el grado o implicación o gravedad de la enfermedad o trastorno; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosificación seleccionado; el uso de medicación concomitante y otras circunstancias relevantes.

Los compuestos de Fórmula I o Fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son generalmente eficaces en un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones al día entran normalmente dentro del intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal. En algunos casos, pueden ser más que adecuados niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo anteriormente citado, mientras que en otros casos pueden emplearse dosis aún mayores con efectos secundarios aceptables.

Los compuestos de la invención se formulan preferiblemente en forma de composiciones farmacéuticas administradas mediante cualquier vía que haga al compuesto biodisponible. Lo más preferiblemente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y procedimientos para preparar las mismas son bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: "The Science and Practice of Pharmacy" (D.B. Troy, Editor, 21ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

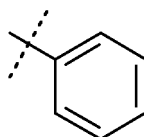
Los compuestos de Fórmula I y Fórmula II son particularmente útiles en los tratamientos de la invención, pero se prefieren ciertos grupos, sustituyentes y configuraciones para los compuestos de Fórmulas I y II. Los siguientes párrafos describen tales grupos, sustituyentes y configuraciones preferidos. Se entenderá que estas preferencias son aplicables tanto a los tratamientos como a los nuevos compuestos de la invención.

Se prefiere que R^1 sea H, R^2 sea H, R^3 sea H y X sea:

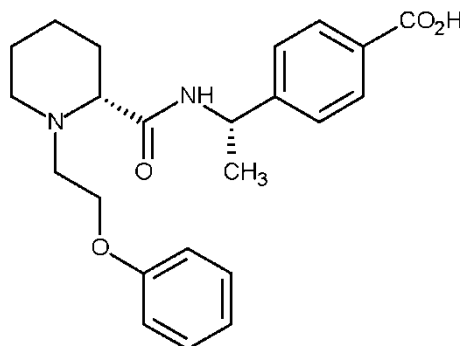


Se prefiere además que, cuando R^3 sea H, R^4 sea metilo.

Se prefiere además que X sea



Se prefieren especialmente ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoico de la siguiente estructura:



y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Se prefiere especialmente además clorhidrato del ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoico.

Como se usa en la presente memoria, "kPag" hace referencia a kilopascales nanométricos; "Boc" hace referencia a un grupo protector *tert*-butoxicarbonilo; "DMEM" hace referencia a medio de Eagle modificado por Dulbecco; "ACN" hace referencia a acetonitrilo; "DMSO" hace referencia a dimetilsulfóxido; "DMF" hace referencia a *N,N*-dimetilformamida; "EtOH" hace referencia a etanol; "THF" hace referencia a tetrahidrofurano; "MeOH" hace referencia a metanol; "EtOAc" hace referencia a acetato de etilo; "Et₂O" hace referencia a dietiléter; "TBME" hace referencia a *tert*-butilmetiléter; "BOP" hace referencia a hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio; "NaHMDS" hace referencia a bis(trimetilsilil)amiduro de sodio; "PGE₂" hace referencia a prostaglandina E₂; "FBS" hace referencia a suero fetal bovino; "IBMX" hace referencia a (3-isobutil-1-metilxantina); "MES" hace referencia a ácido (2-(*N*-morfolino)etanosulfónico; "HEPES" hace referencia a (ácido 2-[4-(2-hidroxietil)piperazin-1-il]etanosulfónico); "HTRF" hace referencia a una tecnología de fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo; "HEK" hace referencia a riñón embrionario humano; "HBSS" hace referencia a solución salina equilibrada de Hank; "CE₈₀" hace referencia a la concentración de un agente que produce un 80 % de la eficacia máxima posible para ese agente y "Cl₅₀" hace referencia a la concentración de un agente que produce un 50 % de la respuesta inhibitoria máxima posible para ese agente.

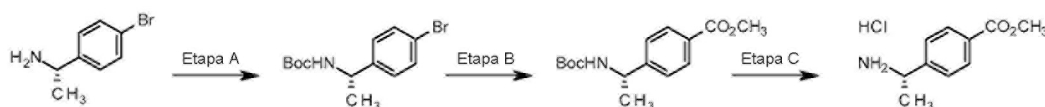
Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlas son bien conocidas en la técnica.

Véanse, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs," *International Journal of Pharmaceutics*, 33: 201-217 (1986); Bastin, R.J., *et al.* "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", *Organic Process Research and Development*, 4: 427-435 (2000) y Berge, S.M., *et al.*, "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19, (1977). Un especialista en la técnica de la síntesis apreciará que los compuestos de Fórmula I y Fórmula II se convierten fácilmente y pueden aislarse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable tal como una sal clorhidrato, usando técnicas y condiciones bien conocidas por un especialista en la técnica. Además, un especialista en la técnica de la síntesis apreciará que los compuestos de Fórmula I y Fórmula II se convierten fácilmente en y pueden aislarse en forma de la correspondiente base libre o ácido libre a partir de la sal farmacéuticamente aceptable correspondiente.

La presente invención contempla todos los enantiómeros o diastereómeros individuales, así como mezclas de los enantiómeros y diastereómeros de dichos compuestos, incluyendo racematos. Los isómeros individuales, enantiómeros o diastereómeros, pueden separarse o resolverse por un especialista en la técnica en cualquier punto conveniente de la síntesis de compuestos de la presente invención mediante procedimientos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (véanse, por ejemplo, J. Jacques, *et al.*, "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, y E.L. Eliel and S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994).

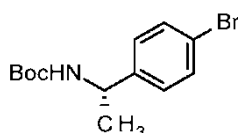
El compuesto de la presente invención, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, pueden prepararse mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, algunos de los cuales se ilustran en los esquemas, preparaciones y ejemplos siguientes. Las etapas sintéticas específicas para cada una de las vías descritas pueden combinarse de modos diferentes, o junto con etapas de esquemas diferentes, para preparar el compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los productos de cada etapa en los esquemas siguientes pueden recuperarse mediante procedimientos convencionales, incluyendo extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración y cristalización. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles para un especialista en la técnica. Todos los sustituyentes, a menos que se especifique otra cosa, son como se definen anteriormente.

Esquema 1



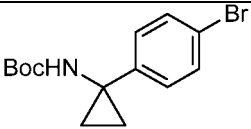
Preparación 1

Síntesis de (S)-N-*tert*-butoxicarbonil-1-(4-bromofenil)etilamina.



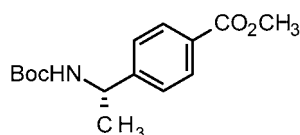
Esquema 1, Etapa A: Se añade dicarbonato de di-*tert*-butilo (1,09 g, 5,0 mmol) a una solución agitada de (-)-1-(4-bromofenil)etilamina (1,00 g, 5,0 mmol) en diclorometano (10 ml) a 0 °C. Se deja calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agita entonces durante 2 horas. Se añade a la mezcla agitada ácido clorhídrico acuoso 1 M (25 ml), seguido de Et₂O (25 ml). Se separan las capas y se extrae la capa acuosa con Et₂O (2 x 25 ml). Se combinan las capas orgánicas, se lavan con NaCl acuoso saturado (25 ml), se seca la capa orgánica sobre MgSO₄, se filtra para retirar los sólidos y se concentra el filtrado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,50 g, 99 % de rendimiento). Espectro de masas (*m/z*) (⁷⁹Br/⁸¹Br) 244/246 (*M* + 2H - *t*-Bu)⁺, 322/324 (*M* + Na)⁺. RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,46-7,43 (m, 2H), 7,19-7,15 (m, 2H), 4,81-4,65 (m, 1H), 1,48-1,36 (m, 12H).

Se prepara el siguiente compuesto esencialmente mediante el procedimiento de la Preparación 1, usando 1-(4-bromofenil)ciclopropanamina en lugar de (-)-1-(4-bromofenil)etilamina:

Nº de prep.	Nombre químico	Estructura	MS (<i>m/z</i>)
2	<i>N</i> -[1-(4-bromofenil)ciclopropil]carbamato de <i>terc</i> -butilo		(⁷⁹ Br/ ⁸¹ Br) 256/258 (M + 2H - <i>t</i> -Bu) ⁺ , 334/336 (M + Na) ⁺

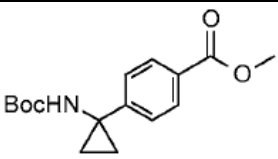
Preparación 3

Síntesis de (S)-4-(1-*terc*-butoxicarbonilaminoetil)benzoato de metilo



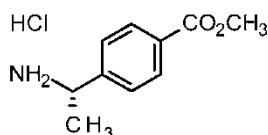
Esquema 1, Etapa B: Se añaden Pd(OAc)₂ (120 mg, 0,53 mmol), 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (355 mg, 0,64 mmol), (S)-*N*-*terc*-butoxicarbonil-1-(4-bromofenil)etilamina (1,50 g, 5,0 mmol), CH₃CN anhidro (45 ml), CH₃OH anhidro (30 ml) y trietilamina (1,9 ml, 13,63 mmol) a un autoclave Parr con agitación mecánica. Se sella el recipiente y se pone a presión de monóxido de carbono de 724 kPag. Se calienta el recipiente a 85 °C y se agita la mezcla durante una noche. Se ventila el recipiente de reacción (precaución: gas venenoso) y se transfiere a un matraz de fondo redondo, aclarando con CH₃OH. Se concentra la mezcla a presión reducida aportando un residuo naranja. Se añade agua (50 ml) y se extrae entonces con EtOAc (2 x 50 ml). Se lavan las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado (25 ml), se separan entonces las capas, se seca la fase orgánica sobre MgSO₄, se filtra para retirar los sólidos y se concentra el filtrado a presión reducida, dando el producto bruto. Se purifica el producto por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con un gradiente de 0 % a 60 % de EtOAc/hexanos. Se concentran las fracciones que contienen el producto deseado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,00 g, 72 % de rendimiento). Espectro de masas (*m/z*) 224 (M + 2H - *t*-Bu)⁺, 302 (M + Na)⁺, 581 (2M + Na)⁺. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,89 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H), 7,41 (d, *J*= 8,2 Hz, 2H), 4,64 (c d, *J*= 7,4, 6,8 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 1,34 (s a, 9H), 1,28 (d, *J*= 7,2 Hz, 3H).

Se prepara el siguiente compuesto esencialmente mediante el procedimiento de la Preparación 3, usando *N*-[1-(4-bromofenil)ciclopropil]carbamato de *terc*-butilo en lugar de (S)-*N*-*terc*-butoxicarbonil-1-(4-bromofenil)etilamina:

Nº de prep.	Nombre químico	Estructura	MS (<i>m/z</i>)
4	4-[1-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)ciclopropil]benzoato de metilo		236 (M + 2H - <i>t</i> -Bu) ⁺ , 314 (M + Na) ⁺ , 605 (2M + Na) ⁺

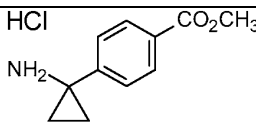
Preparación 5

Síntesis de clorhidrato de (S)-4-(1-aminoetil)benzoato de metilo.

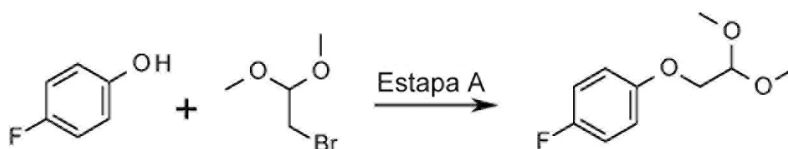


Esquema 1, Etapa C: Se añade cloruro de hidrógeno (4 M en dioxano, 5 ml, 20 mmol) a (S)-4-(1-*terc*-butoxicarbonilaminoetil)benzoato de metilo (1,00 g, 3,58 mmol) y se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 1 hora. Se concentra la mezcla a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (750 mg, 97 % de rendimiento). RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,57 (s a, 3H), 7,99 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H), 7,65 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H), 4,47 (c, *J*= 6,7 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 1,50 (d, *J*= 6,8 Hz, 3H).

Se prepara el siguiente compuesto esencialmente mediante el procedimiento de la Preparación 5, usando 4-[1-(*tert*-butoxicarbonilamino)ciclopropil]benzoato de metilo en lugar de (*S*)-4-(1-*tert*-butoxicarbonilaminoetil)benzoato de metilo:

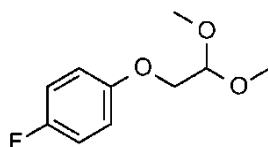
Nº de prep.	Nombre químico	Estructura	MS (<i>m/z</i>)
6	clorhidrato de benzoato de 4-[1-aminociclopropilo]	HCl 	192 (M + H) ⁺

Esquema 2



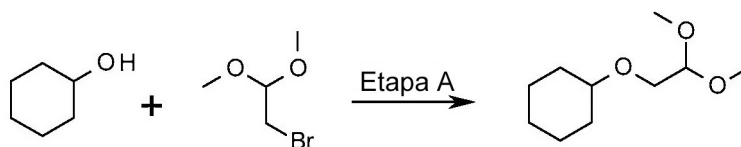
5 Preparación 7

Síntesis de 1-(2,2-dimetoxietoxi)-4-fluorobenceno.



10 **Esquema 2, Etapa A:** Se disuelve 4-fluorofenol (5,5 g, 49,1 mmol) en acetonitrilo (49 ml) y se trata la solución con 2-bromo-1,1-dimetoxietano (11,6 ml, 98,1 mmol) y K₂CO₃ (16,95 g, 122,7 mmol). Se calienta la solución a reflujo con agitación durante 5 días. Se filtra la mezcla y se concentra el filtrado a presión reducida. Se somete el material bruto resultante a cromatografía en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de 0 % a 50 % de EtOAc/hexanos. Se concentran las fracciones que contienen el producto deseado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (5,85 g, 60 % de rendimiento). Espectro de masas (*m/z*) 218 (M + NH₄)⁺, 223 (M + Na)⁺.

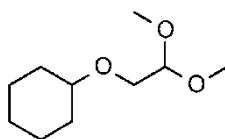
Esquema 3



15

Preparación 8

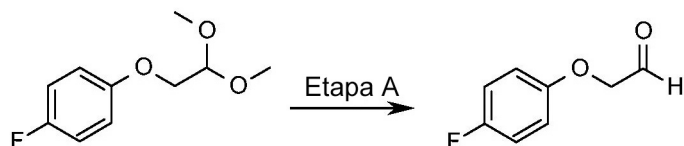
Síntesis de (2,2-dimetoxietoxi)ciclohexano.



20 **Esquema 3, Etapa A:** Se disuelve ciclohexanol (2,00 ml, 19,1 mmol) en DMF (9,6 ml), se añade entonces NaHMDS (solución 1 M en THF, 21,0 ml, 21,0 mmol) y se agita la solución a temperatura ambiente durante 5 min. Se añade 2-bromo-1,1-dimetoxietano (2,26 ml, 19,1 mmol) y se agita entonces la mezcla a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno durante 3 días. Se diluye la mezcla con EtOAc (250 ml) y se lava con NaCl acuoso saturado (2 x 250 ml). Se seca la fase orgánica sobre MgSO₄, se filtra y se concentra el filtrado a presión reducida. Se somete el material bruto resultante a cromatografía en gel de sílice eluyendo con un gradiente de 0 % a 10 % de

EtOAc/hexanos. Se concentran las fracciones que contienen el producto deseado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (1,10 g, 31 % de rendimiento). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,47 (t, J= 5,3 Hz, 1H), 3,49 (d, J= 5,3 Hz, 2H), 3,39 (s, 6H), 3,25 (tt, J= 9,2, 3,7 Hz, 1H), 1,94-1,87 (m, 2H), 1,76-1,69 (m, 2H), 1,55-1,49 (m, 1H), 1,34-1,17 (m, 5H).

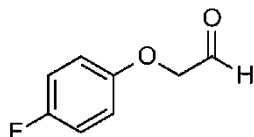
Esquema 4



5

Preparación 9

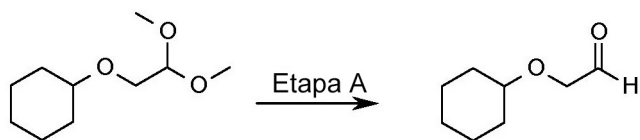
Síntesis de 2-(4-fluorofenoxi)acetaldehído.



10

Esquema 4, Etapa A: Se disuelve 1-(2,2-dimetoxietoxi)-4-fluorobenceno (1,00 g, 4,99 mmol) en cloroformo (5,0 ml) y se trata la mezcla con ácido trifluoroacético (0,755 ml, 9,99 mmol). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 2 días, se calienta entonces a 65 °C y se agita durante 4 h. Se concentra la mezcla a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro con aprox. 70 % de pureza, como se indica por el análisis de RMN-¹H (550 mg, 71 % de rendimiento no corregido). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,85 (t, J= 0,5 Hz, 1H), 7,00 (dd, J= 8,9, 8,5 Hz, 2H), 6,85 (dd, J= 9,5, 4,3 Hz, 2H), 4,55 (s a, 2H).

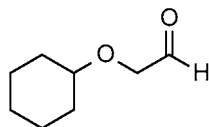
Esquema 5



15

Preparación 10

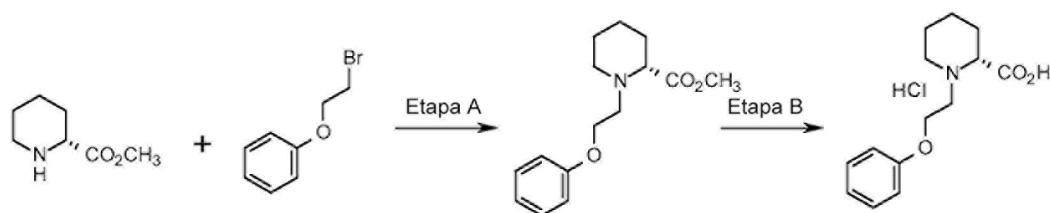
Síntesis de 2-(ciclohexiloxi)acetaldehído.



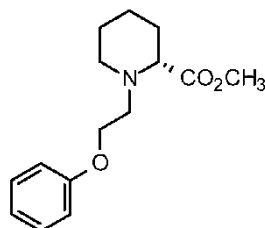
20

Esquema 5, Etapa A: Se acidifica una mezcla de (2,2-dimetoxietoxi)ciclohexano y agua (30 ml) a un pH de 1,0 con ácido sulfúrico (solución acuosa 9,0 M) y se conecta la mezcla a una cabeza de destilación de tramo corto. Se reduce la presión a 26,7 kPa y se calienta la mezcla a 100 °C durante 1 h. Se enfría la mezcla a temperatura ambiente y se extrae entonces la capa acuosa con TBME (2 x 75 ml). Se lavan las capas orgánicas combinadas con NaHCO₃ acuoso saturado (75 ml) y NaCl acuoso saturado (75 ml). Se seca la fase orgánica sobre MgSO₄, se filtra y se concentra el filtrado a presión reducida, aportando el compuesto del título (634 mg, 51 % de rendimiento). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,73 (t, J= 1,0 Hz, 1H), 4,06 (d, J= 1,0 Hz, 2H), 3,31 (tt, J= 9,2, 3,9 Hz, 1H), 1,95-1,89 (m, 2H), 1,79-1,68 (m, 2H), 1,57-1,50 (m, 1H), 1,39-1,20 (m, 5H).

25

Esquema 6**Preparación 11**

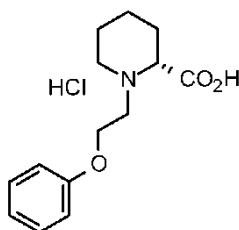
Síntesis de (R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carboxilato de metilo.



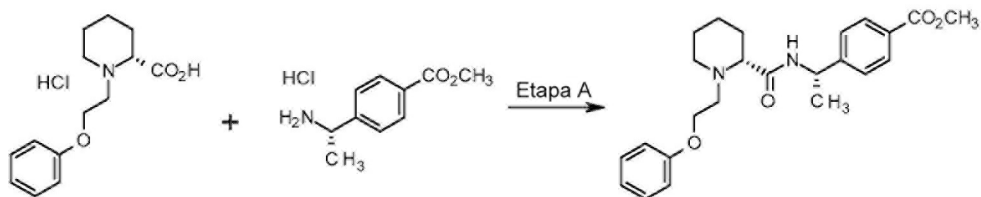
- 5 **Esquema 6, Etapa A:** Se disuelve (R)-piperidin-2-carboxilato de metilo (5,00 g, 34,9 mmol) en DMF (87 ml) y se trata con K_2CO_3 (14,48 g, 104,8 mmol) y β -bromofenol (7,16 g, 34,9 mmol). Se agita la mezcla durante una noche a 100-°C. Se enfría la mezcla a temperatura ambiente y se añade EtOAc (250 ml). Se lava la fase orgánica con agua (4 x 100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml). Se seca la fase orgánica sobre K_2CO_3 , se filtra para retirar los sólidos y se concentra el filtrado a presión reducida, aportando un aceite amarillo. Se somete este material bruto a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice eluyendo con un gradiente de 20 % a 100 % de EtOAc/hexanos. Se concentran las fracciones que contienen el producto deseado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro con aprox. 90 % de pureza por análisis de RMN- 1H (6,50 g, 64 % de rendimiento). Espectro de masas (m/z) 264 ($M + H$) $^+$. RMN- 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,27 (dd, $J = 8,5, 7,3$ Hz, 2H), 6,93 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,10 (t ap., $J = 6,1$ Hz, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,29 (dd, $J = 8,4, 4,0$ Hz, 1H), 3,14 (dt ap, $J = 11,3, 6,4$ Hz, 1H), 2,95 (dt ap, $J = 13,7, 6,1$ Hz, 1H), 2,89 (dt ap, $J = 13,7, 6,1$ Hz, 1H), 2,42 (ddd, $J = 11,6, 7,9, 3,7$ Hz, 1H), 1,90-1,82 (m, 1H), 1,79 (td ap, $J = 8,9, 3,8$ Hz, 1H), 1,67-1,59 (m, 3H), 1,39 (td ap, $J = 8,8, 4,0$ Hz, 1H).

Preparación 12

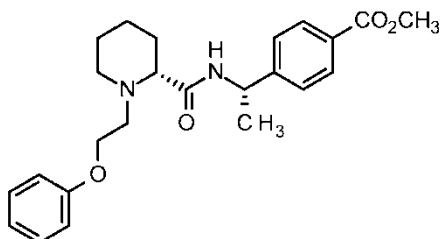
Síntesis de clorhidrato del ácido (R)-1-(2-fenoxietil)piperidincarboxílico.



- 20 **Esquema 6, Etapa B:** A temperatura ambiente, se disuelve (R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carboxilato de metilo (6,50 g, 22,2 mmol) en THF (11,1 ml), se añade NaOH (solución acuosa 5 M, 8,89 ml, 44,4 mmol) y se calienta a 65 °C durante una noche con agitación. Se añade cloruro de hidrógeno (solución acuosa 5 M) hasta que el pH de la fase acuosa alcanza 1,0. Se lava la fase acuosa con CH_2Cl_2 (3 x 75 ml). Se concentra la fase acuosa a presión reducida, aportando un sólido blanco. Se tritura el sólido con EtOH (50 ml), se filtra para retirar las sales suspendidas y se concentra el filtrado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (5,17 g, 81 % de rendimiento). Espectro de masas (m/z) 250 ($M + H$) $^+$. RMN- 1H (400 MHz, CD_3OD): δ 7,31 (dd, $J = 8,8, 7,5$ Hz, 2H), 7,02-6,97 (m, 3H), 4,47 (ddd acoplado con AB, $J = 11,5, 7,1, 3,0$ Hz, 1H), 4,38 (ddd acoplado con AB, $J = 11,8, 6,3, 3,1$ Hz, 1H), 4,15 (dd, $J = 11,2, 2,8$ Hz, 1H), 3,80 (d, $J = 12,2$ Hz, 1H), 3,73-3,68 (m, 2H), 3,29 (td ap, $J = 13,2, 3,8$ Hz, 1H), 2,35 (d, $J = 13,5$ Hz, 1H), 2,00-1,80 (m, 4H), 1,68 (t ap, $J = 13,1$ Hz, 1H).

Esquema 7**Preparación 13**

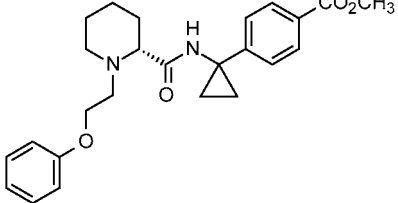
Síntesis de 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo.

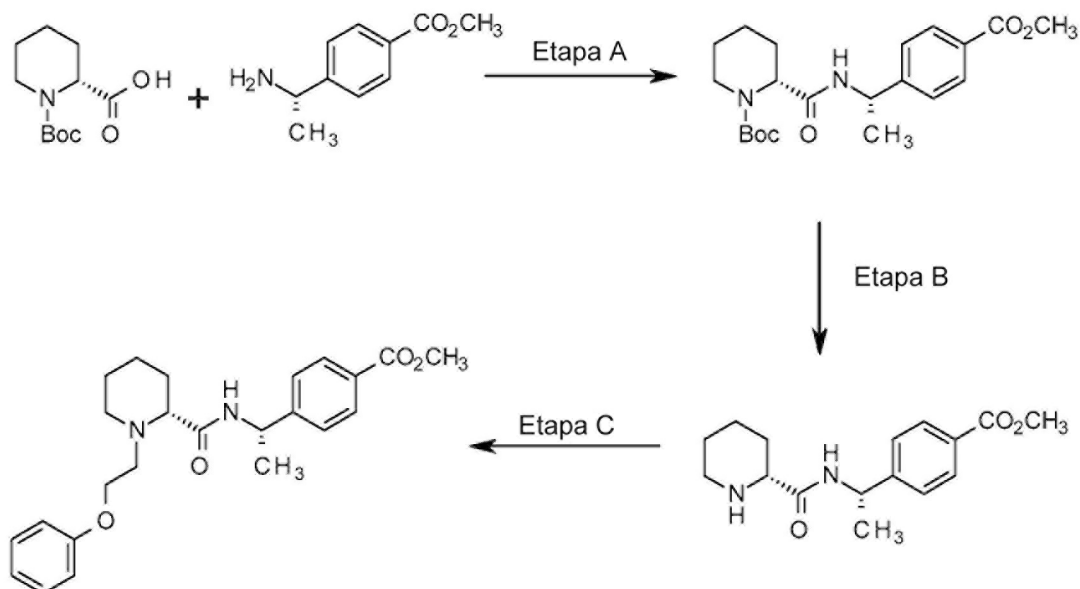


- 5 **Esquema 7, Etapa A:** Se disuelve clorhidrato del ácido (*R*)-1-(2-fenoxietil)piperidincarboxílico (750 mg, 2,62 mmol) y clorhidrato de (*S*)-4-(1-aminoetil)benzoato de metilo (566 mg, 2,62 mmol) en DMF (5,25 ml) a temperatura ambiente. Se añade trietilamina (1,65 ml, 11,81 mmol) y entonces BOP (1,51 g, 3,41 mmol). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h y se diluye entonces con EtOAc (25 ml). Se lava la mezcla con LiCl acuoso saturado (2 x 25 ml). Se seca la capa orgánica sobre MgSO₄, se filtra para retirar los sólidos y se concentra a presión reducida. Se somete el aceite naranja amarillento resultante a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de 0 % a 100 % de EtOAc/hexanos. Se concentran las fracciones que contienen el producto deseado a presión reducida, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (930 mg, 86 % de rendimiento). Espectro de masas (*m/z*) 411 (*M* + *H*)⁺. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,13 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,86 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,43 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,24 (dd, *J* = 8,8, 7,4 Hz, 2H), 6,89 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,85 (dd, *J* = 8,8, 1,0 Hz, 2H), 4,96 (quint. ap, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,05-3,98 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,11 (dt ap, *J* = 11,4, 3,7 Hz, 1H), 2,81 (dd, *J* = 7,2, 2,8 Hz, 1H), 2,77 (c ap, *J* = 6,8 Hz, 1H), 2,50 (dt ap, *J* = 11,2, 6,8 Hz, 1H), 2,15 (td ap, *J* = 11,6, 2,8 Hz, 1H), 1,68-1,61 (m, 2H), 1,59-1,40 (m, 3H), 1,36 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,27-1,18 (m, 1H).
- 10
- 15

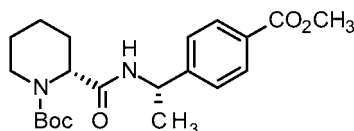
Se preparan los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de la Preparación 13, usando las sales de amonio apropiadas en lugar de clorhidrato de (*S*)-4-(1-aminoetil)benzoato de metilo:

Nº de prep.	Nombre químico	Estructura	MS (<i>m/z</i>)
14	4-[[[(2 <i>R</i>)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo		397 (<i>M</i> + <i>H</i>) ⁺
15	4-[(1 <i>S</i>)-1-[(2 <i>R</i>)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]propil]benzoato de metilo		425 (<i>M</i> + <i>H</i>) ⁺

16	4-[1-[[[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]ciclopropil]benzoato metilo	de		423 (M + H) ⁺
----	---	----	--	--------------------------

Esquema 8**Preparación 17**

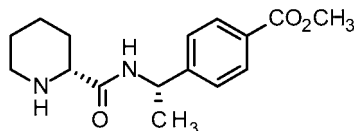
Síntesis de 4-[(1S)-1-[[[(2R)-piperidin-1-*tert*-butoxicarbonil-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo.



- 5 **Esquema 8, Etapa A:** Se añade trietilamina (13,4 ml, 96,0 mmol) a una mezcla a 0 °C de ácido (*R*)-*N*-*tert*-butoxicarbonilpiperidico (20,0 g, 87,2 mmol) y CH₂Cl₂ (400 ml). Se añade entonces cloroformiato de isobutilo (12,5 ml, 96,0 mmol) gota a gota y se agita durante 20 minutos. Se añade 4-[(*S*)-aminoetil]benzoato de metilo (17,2 g, 96,0 mmol), se deja calentar entonces la mezcla a temperatura ambiente y se agita durante 1 hora. Se añade agua (300 ml), se separan entonces las capas y se lava la capa orgánica con KHSO₄ acuoso 1 M (200 ml), seguido de NaCl acuoso saturado (200 ml). Se separa la capa orgánica y se seca sobre MgSO₄, se filtra entonces para retirar los sólidos y se concentra el filtrado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (34,0 g, 100 % de rendimiento). Espectro de masas (*m/z*) 291 (M - Boc + 2H)⁺, 413 (M + Na)⁺. RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,99 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 5,14 (quint. ap, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,72 (s a, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,40 (dd, *J* = 6,2, 5,8 Hz, 1H), 2,63 (td ap, *J* = 6,9, 2,4 Hz, 1H), 2,25 (s a, 1H), 1,75 (tc ap, *J* = 13,4, 6,7 Hz, 1H), 1,63-1,50 (m, 3H), 1,47 (s, 9H), 1,38 (t ap, *J* = 5,6 Hz, 1H), 0,91 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H).

Preparación 18

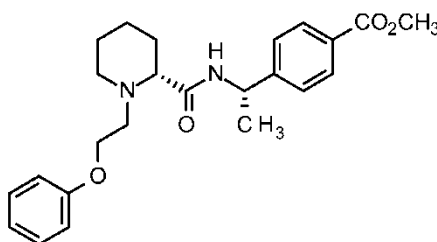
Síntesis de 4-[(1S)-1-[[[(2R)-piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo.



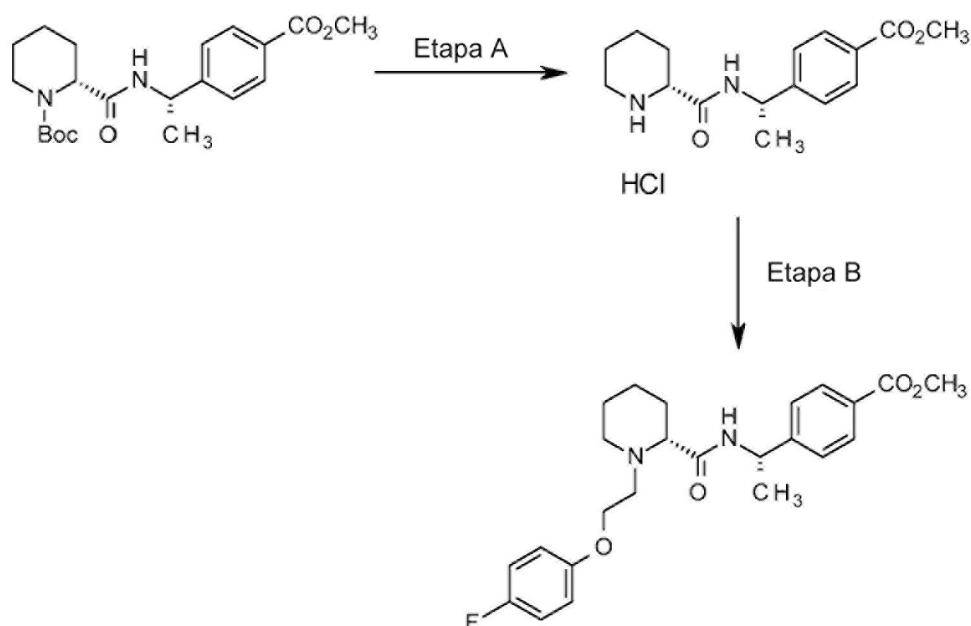
Esquema 8, etapa B: Se añade gota a gota cloruro de acetilo (62,0 ml, 871 mmol) a una mezcla a 0 °C de EtOAc (136 ml) y EtOH (55,8 ml), se deja calentar entonces la mezcla a temperatura ambiente durante un intervalo de 30 minutos. Se añade una solución de 4-[(1S)-1-[(2R)-piperidin-1-*terc*-butoxicarbonil-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo (34,0 g, 87,1 mmol) en EtOAc (136 ml) y se agita entonces la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 hora. Se extrae la mezcla con agua (2 x 100 ml) y se añade entonces solución saturada de amoníaco al 32 % a las capas acuosas combinadas hasta que el pH alcanza 10. Se extrae la mezcla con TBME (2 x 200 ml), se secan entonces las capas orgánicas combinadas sobre MgSO₄, se filtran para retirar los sólidos y se concentra el filtrado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (20,2 g, 80 % de rendimiento). Espectro de masas (*m/z*) 291 (M + H)⁺, 581 (2M + H)⁺. RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,00 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,15 (d a, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,14 (quint. ap, *J* = 7,4 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,23 (dd, *J* = 9,9, 3,3 Hz, 1H), 3,01 (dt ap, *J* = 11,8, 3,5 Hz, 1H), 2,68 (ddd, *J* = 12,1, 10,7, 3,0 Hz, 1H), 1,98-1,90 (m, 1H), 1,61-1,52 (m, 1H), 1,48 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,43-1,34 (m, 2H).

Preparación 19

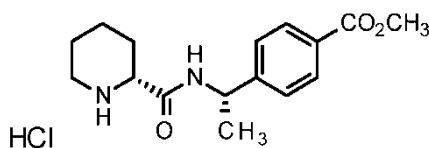
Síntesis de 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo.



Esquema 8, Etapa C: Se añade gota a gota una solución de NaIO₄ (35,0 g, 161,9 mmol) en agua (235 ml) a una suspensión de gel de sílice (100 g) en CH₂Cl₂ (705 ml) a temperatura ambiente. Se agita la mezcla durante 30 minutos, se añade entonces 1,2-dihidroxi-3-fenoxipropano (21,5 g, 121,4 mmol) y se agita la mezcla durante 30 minutos adicionales. Se filtra la mezcla para retirar los sólidos y se separan las capas del filtrado. Se seca la capa orgánica sobre MgSO₄ y se filtra para retirar los sólidos. Se añade al filtrado 4-[(1S)-1-[(2R)-piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo (23,5 g, 80,9 mmol), seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (35,7 g, 161,9 mmol) en porciones pequeñas. Se agita durante 1 hora a temperatura ambiente y se añade entonces una solución acuosa de amonio al 32 % hasta que el pH alcanza 10. Se separan las capas y se seca la fase orgánica sobre MgSO₄. Se filtra para retirar los sólidos y se concentra entonces el filtrado a presión reducida, dando el material bruto. Se disuelve el material en EtOAc (300 ml) y se filtra a través de una almohadilla de gel de sílice (30 g). Se concentra el filtrado a presión reducida, aportando 36 g de material. Se añade TBME (180 ml) y se calienta a 50 °C. Manteniendo la temperatura a 50 °C, se añaden hexanos (360 ml) durante 15 minutos y se agita entonces durante 1 hora. Se deja enfriar la mezcla a temperatura ambiente, se aíslan entonces los sólidos por filtración y se secan a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (16,7 g, 50 % de rendimiento).

Esquema 9**Preparación 20**

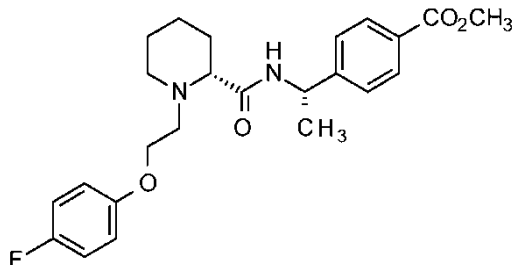
Síntesis de clorhidrato de 4-[(1S)-1-[(2R)-piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo.



- 5 **Esquema 9, Etapa A:** Se trata 4-[(1S)-1-[(2R)-piperidin-1-*terc*-butoxicarbonil-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo (7,80 g, 19,98 mmol) con ácido clorhídrico (solución 4 M en 1,4-dioxano, 25,0 ml, 99,9 mmol) y se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 1 h. Se concentra la mezcla a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (6,0 g, 92 % de rendimiento). Espectro de masas (m/z) 291 ($M + H$)⁺, 581 ($2M + H$)⁺, 603 ($2M + Na$)⁺.

Preparación 21

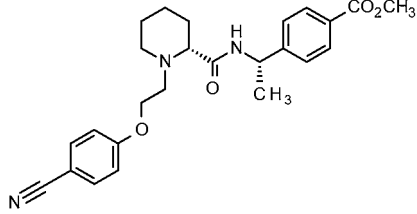
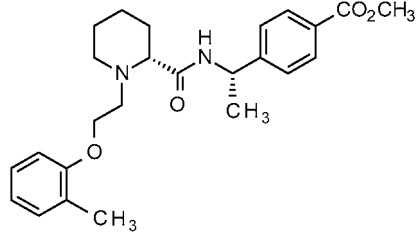
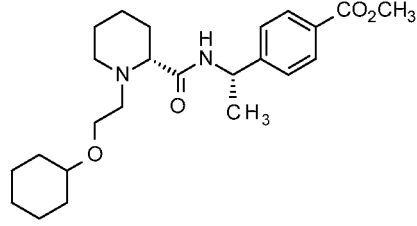
Síntesis de 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo.



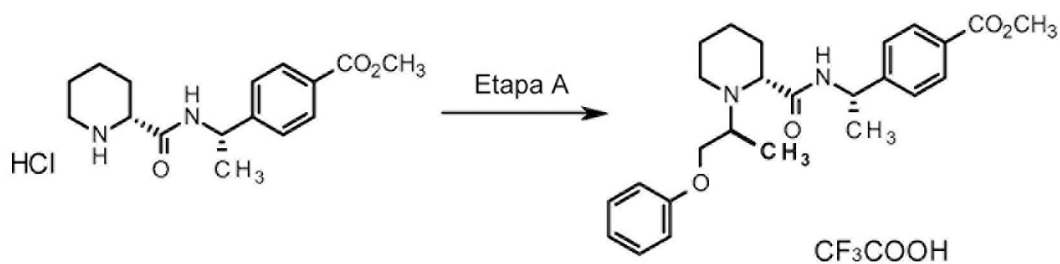
- 15 **Esquema 9, Etapa B:** Se agita una mezcla de clorhidrato de 4-[(1S)-1-[(2R)-piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo (650 mg, 1,99 mmol) y 2-(4-fluorofenoxi)acetaldehído (337 mg, 2,19 mmol) en DCE (9,9 ml) a temperatura ambiente durante 30 min. Se añaden ácido acético (0,113 ml, 1,99 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (590 mg, 2,78 mmol) y se agita a temperatura ambiente durante 3 días. Se inactiva la reacción con NaHCO₃ acuoso saturado (25 ml) y se extrae la capa acuosa con EtOAc (2 x 25 ml). Se lavan las capas orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado (25 ml), se seca entonces la fase orgánica sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a presión reducida. Se somete el aceite resultante a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de 0 % a 100 % de EtOAc/hexanos. Se concentran las fracciones que contienen el producto deseado a presión reducida, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (600 mg, 70 % de rendimiento).
- 20

Espectro de masas (m/z) 429 ($M + H$)⁺, 451 ($M + Na$)⁺.

Se preparan los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de la Preparación 21, usando los aldehídos apropiados en lugar de 2-(4-fluorofenoxi)acetaldehído:

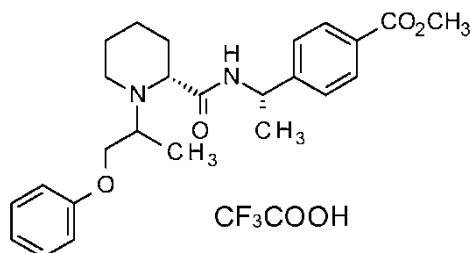
Nº de prep.	Nombre químico	Estructura	MS (m/z)
22	4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-(4-cianofenoxi)etil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo		436 ($M + H$) ⁺
23	4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-(2-metilfenoxi)etil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo		425 ($M + H$) ⁺ , 447 ($M + Na$) ⁺
24	4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-(ciclohexiloxi)etil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo		417 ($M + H$) ⁺ , 439 ($M + Na$) ⁺

Esquema 10



5 Preparación 25

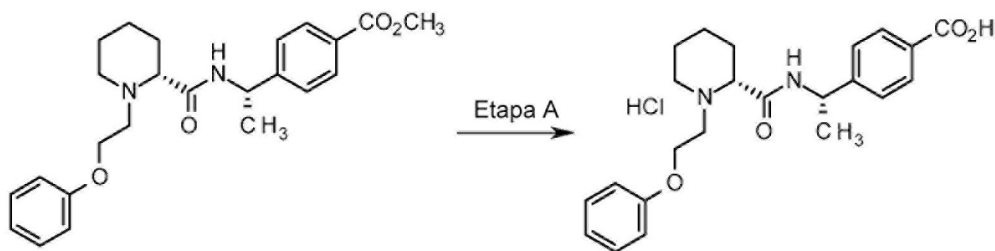
Síntesis de trifluoroacetato de 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(1-metil-2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo.



10 **Esquema 10, Etapa A:** Se agita una mezcla de clorhidrato de 4-[(1S)-1-[(2R)-piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo (150 mg, 0,46 mmol), 1-fenoxi-2-propanona (69 μ l, 0,50 mmol), DCE (2,3 ml), ácido acético (26 μ l, 0,46 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (136 mg, 0,64 mmol) a 65 °C durante 2 días. Se inactiva la reacción con

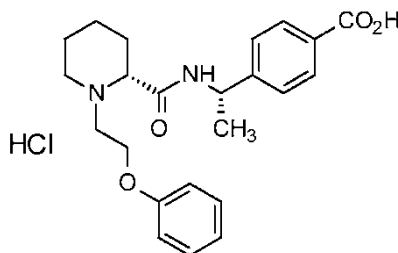
NaHCO₃ acuoso saturado (75 ml) y se extrae la capa acuosa con EtOAc (75 ml). Se seca la fase orgánica sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra a presión reducida. Se somete el material bruto a cromatografía en fase inversa en gel de sílice C18, eluyendo con 0,1 % de TFA en un gradiente de 5 a 50 % de ACN/agua. Se concentran las fracciones que contienen el producto deseado a presión reducida, aportando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido en una mezcla 2:1 de diastereómeros (24 mg, 10 % de rendimiento). Espectro de masas (*m/z*) 425 (M + H)⁺.

Esquema 11



Ejemplo 1

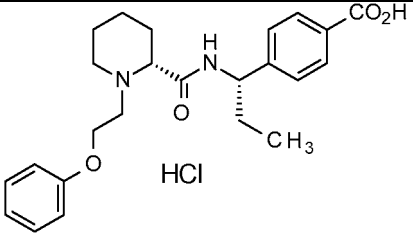
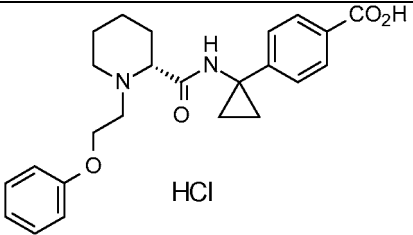
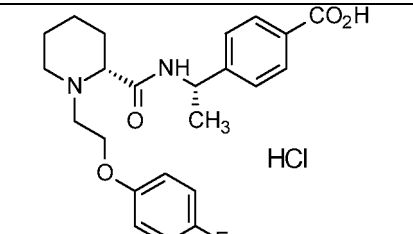
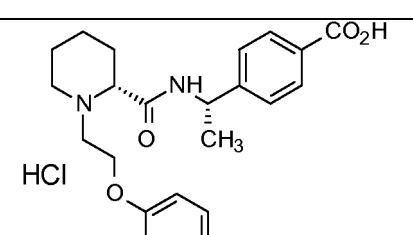
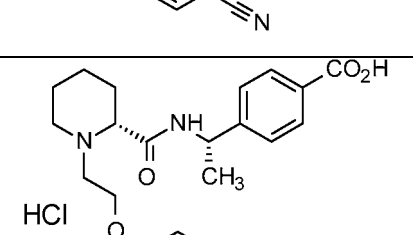
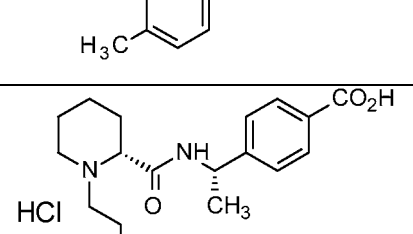
Síntesis de clorhidrato del ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonyl]amino]etil]benzoico.

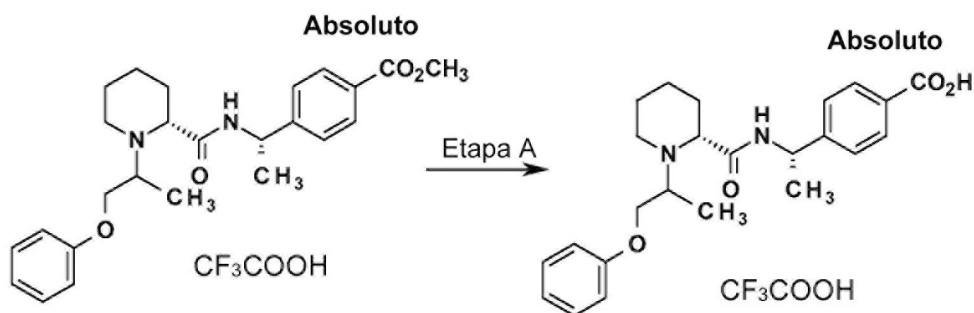


- Esquema 11, Etapa A: Se disuelve 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonyl]amino]etil]benzoato de metilo (930 mg, 2,27 mmol) en THF (4,0 ml) y CH₃OH (4,0 ml) a temperatura ambiente. Se añade NaOH (solución acuosa 1 M, 4,5 ml, 4,5 mmol) y se agita entonces la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 3 días. Se concentra la mezcla de reacción a presión reducida, aportando un sólido gomoso. Se añade cloruro de hidrógeno (solución 4 M en dioxano, 2 ml, 8 mmol) y se agita vigorosamente durante 10 minutos. Se retiran los sólidos suspendidos por filtración y se concentra el filtrado a presión reducida, aportando un sólido blanco. Se tritura el sólido en dietiléter a ebullición (25 ml) y se aíslan los sólidos suspendidos por filtración, aportando el compuesto del título (650 mg, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. Espectro de masas (*m/z*): 397 (M + H)⁺. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,89 (s a, 1H), 10,08 (s a, 1H), 9,41 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,47 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,26 (dd, *J* = 8,4, 7,6 Hz, 2H), 6,96 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 5,02 (quint. ap, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,34-4,21 (m, 2H), 4,03 (t ap, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,57 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 3,48-3,39 (m, 1H), 3,37-3,18 (m, 2H), 2,15 (d, *J* = 13,5 Hz, 1H), 1,82-1,66 (m, 4H), 1,50-1,43 (m, 1H), 1,39 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H).

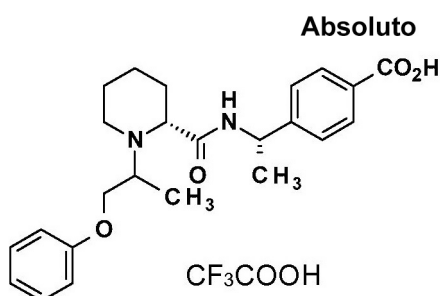
Se preparan los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento del Ejemplo 1, usando los ésteres metílicos apropiados en lugar de 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonyl]amino]etil]benzoato de metilo:

Nº de prep.	Nombre químico	Estructura	MS (<i>m/z</i>)
2	clorhidrato del ácido 4-[[[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonyl]amino]etil]benzoico		383 (M + H) ⁺

3	clorhidrato del ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]propil]benzoico		411 (M + H) ⁺
4	clorhidrato del ácido 4-[1-[(2R)-1-(2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]ciclopropil]benzoico		409 (M + H) ⁺
5	clorhidrato del ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoico		415 (M + H) ⁺
6	clorhidrato del ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-(4-cianofenoxi)etil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoico		422 (M + H) ⁺
7	clorhidrato del ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-(2-metilfenoxi)etil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoico		411 (M + H) ⁺
8	clorhidrato del ácido 4-[(1S)-1-[(2R)-1-(2-ciclohexiloxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoico		403 (M + H) ⁺

Esquema 12

Síntesis de trifluoroacetato del ácido 4-[(1S)-1-[[2R)-1-(1-metil-2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoico.



Esquema 12, Etapa A: Se disuelve 4-[(1S)-1-[[2R)-1-(1-metil-2-fenoxietil)piperidin-2-carbonil]amino]etil]benzoato de metilo (24 mg, 0,045 mmol) en THF (226 μ l) y se trata la mezcla con metanol (226 μ l) e hidróxido de sodio (solución acuosa 1 N, 170 μ l, 0,17 mmol). Se agita la mezcla durante una noche a temperatura ambiente y se concentra entonces a presión reducida, aportando un sólido gomoso. Se somete el material bruto a cromatografía en fase inversa en gel de sílice C18, eluyendo con 0,1% de TFA en un gradiente de 5 % a 50 % de ACN/agua, aportando dos fracciones separadas, que contiene cada una un diastereómero separado de producto. Se concentra cada fracción a presión reducida, se disuelve cada una en un volumen mínimo de metanol, se tritura cada una con dietiléter (5 ml) y se concentra cada una a presión reducida, aportando un isómero 1 (3,0 mg, 13 % de rendimiento) y un isómero 2 (1,1 mg, 5 % de rendimiento) del compuesto del título en forma de sólidos blancos.

Ejemplo 9a: Isómero principal (isómero 1). Espectro de masas (m/z): 411 ($M + H$)⁺. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) δ 9,75 (s a), 9,30 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,82 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,43 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,33-7,25 (m, 2H), 7,04-6,95 (m, 3H), 5,03 (p ap, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,35-4,24 (m, 2H), 4,07 (dd, $J = 12,1, 3,5$ Hz, 1H), 3,74-3,65 (m, 1H), 3,52 (d a, $J = 12,5$ Hz, 1H), 3,11-2,99 (m, 1H), 2,15 (d a, $J = 12,4$ Hz, 1H), 1,89-1,71 (m, 4H), 1,52-1,45 (m, 1H), 1,40 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 1,33 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

Ejemplo 9b: Isómero minoritario (isómero 2). Espectro de masas (m/z): 411 ($M + H$)⁺.

Se aprecia fácilmente por un especialista en la técnica que las sales de HCl de los ejemplos 1-9 se convierten fácilmente en las correspondientes bases libres utilizando condiciones bien conocidas en la técnica.

Unión *in vitro* a EP1, EP2, EP3 y EP4 humanos

Se preparan membranas hEP1 y hEP4 a partir de células HEK293 recombinantes que expresan establemente receptores EP1 humano (número de acceso a Genbank AY275470) o EP4 (número de acceso a Genbank AY429109). Se preparan membranas hEP2 y hEP3 a partir de células HEK293 transfectadas establemente con plásmidos de receptor EP2 (número de acceso a Genbank AY275471) o EP3 (isoforma VI: número de acceso a Genbank AY429108). Se homogeneizan los sedimentos celulares congelados en tampón de homogeneización usando un homogeneizador de teflón/vidrio. Se toman alícuotas de la proteína de membrana y se congelan rápidamente en hielo seco antes de almacenamiento a -80 °C. El tampón de homogeneización contenía Tris-HCl 10 mM, pH 7,4, sacarosa 250 mM, EDTA 1 mM, indometacina 0,3 mM y además Complete™ con EDTA, obtenido de Roche Molecular Biochemicals (número de catálogo 1.697.498).

Se determinan los valores de K_d para la unión de [³H]-PGE₂ a cada receptor mediante estudios de unión por saturación o competición homóloga. Se ensayan los compuestos en formato de 96 pocillos usando una serie de

dilución de tres veces, generando una curva de 10 puntos. Se incuban el compuesto diluido con membrana EP1 20 µg/pocillo, EP2 10 µg/pocillo, EP3 1 µg/pocillo o EP4 10 a 20 µg/pocillo durante 90 minutos a 25 °C en presencia de [³H]-PGE₂ 0,3 a 0,5 nM (PerkinElmer, 118 a 180 Ci/mmol). Se efectúa la reacción de unión en 200 µl de tampón MES (MES 10 mM pH 6,0 con KOH, MgCl₂ 10 mM y EDTA 1 mM) usando 0,5 ml de placas de 96 pocillos profundos de poliestireno. Se calcula la unión no específica comparando la unión en presencia y ausencia de PGE₂ 2 µM. Se recolectan las membranas por filtración (recolector TomTek), se lavan 4 veces con tampón frío (MES 10 mM pH 6,0 con KOH, MgCl₂ 10 mM), se secan en una estufa a 60 °C y se cuantifica la radiactividad como cuentas por minuto (cpm) usando un detector TopCount. Se calcula la unión específica porcentual como el porcentaje de unión en ausencia de cualquier inhibidor, corregido por la unión en presencia de PGE₂ 2 µM. Se analizan los datos usando una ecuación logística no lineal de 4 parámetros (ABase Equation 205) como se muestra: $y = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$ donde y= % de inhibición específica, A= valle de la curva; B= pico de la curva; C= Cl₅₀ relativa= concentración que causa un 50 % de inhibición basada en el intervalo de datos de pico a valle; D= pendiente de Hill= pendiente de la curva. Ki conversión a partir de los valores de Cl₅₀ ($K_i = Cl_{50} / (1 + [L]/K_d)$ donde [L] es la concentración de ligando). Se ensayan los compuestos de los Ejemplos 1-9 de la presente memoria esencialmente como se describe anteriormente y exhiben un valor de K_i para hEP4 menor de aproximadamente 1 µM.

Tabla 1: Unión *in vitro* del Ejemplo 1 a EP1, EP2, EP3 y EP4 humanos

Compuesto de prueba	hEP1, K _i (nM)	hEP2, K _i (nM)	hEP3, K _i (nM)	hEP4, K _i (nM)
Ejemplo 1	>17500	1550 ± 1860 (n= 3)	>14000	54 ± 27 (n= 7)

Más específicamente, siguiendo los procedimientos esencialmente como se describen anteriormente, los datos en la tabla 1 demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 se une a hEP4 a bajas concentraciones nanomolares. Los datos en la tabla 1 demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 se une a hEP4 más fuertemente que a hEP1, hEP2 y hEP3, indicando selectividad por el receptor hEP4.

Actividad antagonista funcional de EP4 humano *in vitro*

Se realizan ensayos en células HEK293 recombinantes que expresan establemente el receptor EP4 humano. Se mantienen las líneas celulares cultivando en DMEM rico en glucosa y clorhidrato de piridoxina (Invitrogen) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS), piruvato de sodio 1 mM, HEPES 10 mM, geneticina 500 µg/ml y L-glutamina 2 mM. Se hicieron crecer los cultivos confluentes a 37 °C en una atmósfera que contiene 5 % de CO₂. Se recolectan las células usando 2,5 % de tripsina-EDTA, se suspenden en medio de congelación (FBS con 6 % de DMSO) a 10⁷ células/ml y se almacenan alícuotas en nitrógeno líquido. Justo antes del ensayo, se descongelan las células en DMEM, se centrifugan y se resuspenden en tampón de AMPc.

Se mide la inhibición de la producción de AMPc estimulada por PGE₂ por antagonistas de EP4 usando HTRF (catálogo Cisbio n° 62AM4PEB). Se incuban una alícuota equivalente a 4000 células con 50 µl de tampón de ensayo de AMPc que contiene PGE₂ a una concentración predeterminada para producir una CE₈₀ (PGE₂ 0,188 nM de Sigma, n° de catálogo P5640-10 mg) y antagonistas de EP4 a temperatura ambiente durante 20 minutos. El tampón de ensayo de AMPc contiene 500 ml de HBSS, 0,1 % de BSA, HEPES 20 mM e IBMX 200 µM (Sigma 15879). El CJ-042794 (ácido 4-((1S)-1-((5-cloro-2-((4-fluorofenil)oxil)fenil)carbonil)amino)etil)benzoico) sirve como control positivo. Para medir los niveles de AMPc, se incuban conjugado de cAMP-d2 y conjugado anti-AMP-criptato en tampón de lisis con las células tratadas a temperatura ambiente durante 1 hora. Se detecta la señal de HTRF usando un lector de placas EnVision® (Perkin-Elmer) para calcular la relación de fluorescencia a 665 nm a 620 nm. Se convierten los datos brutos en cantidad de AMPc (pmol/pocillo) usando una curva patrón de AMPc generada para cada experimento. Se analizan los resultados usando una ecuación logística no lineal de 4 parámetros (ABase Equation 205) como se muestra: $y = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$ donde y= % de inhibición específica, A= valle de la curva, B= pico de la curva, C= Cl₅₀ relativa= concentración que causa un 50 % de inhibición basada en el intervalo de los datos de pico a valle, D= Hill, pendiente= pendiente de la curva.

Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, se ensayan los compuestos de los Ejemplos 1-9 de la presente memoria esencialmente como se describe anteriormente, y exhiben una Cl₅₀ menor de aproximadamente 1 µM. Más específicamente, siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, el Ejemplo 1 tiene una Cl₅₀ de 6,9 ± 2,5 nM (n= 5) medida en EP4 humanos. Esto demuestra que los compuestos de los Ejemplos 1-9 son antagonistas potentes de EP4 humano *in vitro*.

Actividad antagonista funcional de EP4 de rata *in vitro*

Se clona ADNc de EP4 de rata (n° de acceso a Genbank NM_03276) en el vector pcDNA 3.1 y posteriormente se transfecta en células HEK293 para expresión de receptor. Se aumenta de escala el clon estable de EP4 de rata y se congela entonces como un banco de células para futuro cribado de compuestos. Para ensayar los compuestos antagonistas de EP4 en células rEP4, se descongelan las células congeladas y se resuspenden entonces en tampón de ensayo de AMPc. El tampón de AMPc está compuesto por HBSS sin rojo fenol (Hyclone, SH30268)

suplementado con HEPES 20 mM (Hyclone, SH30237), 0,1 % de BSA (Gibco, 15260) e IBMX 125 μ M (Sigma, 15879). Se siembran las células en placas negras de poliestireno de fondo redondo de media área de 96 pocillos (Costar 3694). Se diluyen los compuestos en serie con DMSO, dando curvas de concentración-respuesta de 10 puntos. Se añaden entonces los compuestos diluidos a tampón de ensayo de AMPc que contiene PGE₂ (Cayman 14010, a una concentración predeterminada para producir una EC₈₀) a una relación de DMSO/tampón de 1/100. Se tratan las células con compuestos en presencia de PGE₂ (concentración de CE₈₀) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los niveles de AMPc generados a partir de las células se cuantifican mediante un kit de ensayo HTRF de AMPc (Cisbio 62AM4PEC). Se leen las placas en un lector de placas EnVision usando el protocolo optimizado de HTRF (PerkinElmer). Se calculan las CI₅₀ usando el ajuste de curva de dosis y respuesta sigmoidea de regresión no lineal Graphpad Prism (v. 4).

Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, se ensayan los compuestos de los Ejemplos 1-9 de la presente memoria esencialmente como se describe anteriormente y exhiben una CI₅₀ menor de aproximadamente 1 μ M. Más específicamente, siguiendo los procedimientos esencialmente como se describen anteriormente, el compuesto del Ejemplo 1 tiene una CI₅₀ de 15 nM medida en EP4 de rata. Esto demuestra que los compuestos de los Ejemplos 1-9 son potentes antagonistas de EP4 de rata *in vitro*.

Actividad antagonista *in vitro* en sangre humana completa

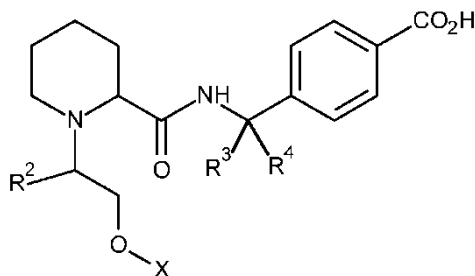
Se cree que los efectos inhibidores de PGE₂ sobre la producción de TNF α inducida por LPS en macrófagos/monocitos está mediada por receptores EP4 (véase Murase, A., *et al.*, *Life Sciences*, 82: 226-232 (2008)). La capacidad del compuesto del Ejemplo 1 de revertir el efecto inhibitor de PGF₂ sobre la producción de TNF α inducida por LPS en sangre humana completa es un indicio de actividad funcional.

Se recoge sangre de donantes voluntarios normales en tubos Vacutainer con heparina de sodio. Los donantes no han tomado AINE ni celecoxib en 48 horas o glucocorticoides en 2 semanas antes de la donación. Todos los tubos/donaciones se agrupan en tubos de centrifuga cónicos Falcon de 50 ml y se distribuyen 98 μ l/pocillo en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos (Falcon 3072). Se diluyen los compuestos en DMSO a 100 x final y se añade 1 μ l/pocillo por triplicado a la sangre, dando curvas de concentración y respuesta de 7 puntos. Se pretrata la sangre con los compuestos a 37 °C en atmósfera humidificada de 5 % de CO₂ durante 30 minutos, después de lo cual se añaden 1 μ l/pocillo de solución de lipopolisacárido (LPS) 1 mg/ml (Sigma 0111:B4) en suero fetal bovino (BSA)/PBS 0,2 mg/ml tanto con PGE₂ 1 mM (Cayman 14010) como sin ella, dando una concentración final de LPS de 10 μ g/ml tanto con PGE₂ 10 nM con sin ella. Se incuban las placas durante 20-24 horas a 37 °C en una atmósfera humidificada de 5 % de CO₂. Se centrifugan las placas a 1800 x g durante 10 minutos a 22 °C en una centrifuga Eppendorf 5810R. Se retira el plasma de la capa celular y se transfiere a placas de polipropileno de fondo en v. Se cuantifican los niveles de TNF α en 2 μ l de plasma por un inmunoensayo enzimático comercialmente disponible (R&D Systems DY210), usando placas Immulon 4 HBX (Thermo 3855) y sustrato 3,3',5,5' tetrametilbifenil-4,4'-diamina (KPL 50-76-03). Se leen las placas a A₄₅₀-A₆₅₀ en un lector de placas (Molecular Devices Versamax) usando el software SOFTmaxPRO (v. 4.3.1). Se calculan las CI₅₀ usando el ajuste de curva de dosis y respuesta sigmoidea de regresión no lineal Graphpad Prism (v. 4). Se expresan los resultados como la media geométrica $\pm$ desviación estándar; n= número de determinaciones independientes.

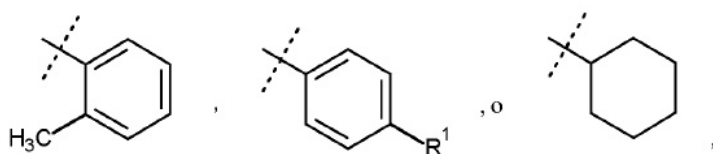
Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describen anteriormente, se ensayaron los compuestos de los Ejemplos 1-9 de la presente memoria esencialmente como se describe anteriormente y exhibían una CI₅₀ menor de aproximadamente 1 μ M. Más específicamente, siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, el compuesto del Ejemplo 1 tiene una CI₅₀ de 123 $\pm$ 88 nM (n= 12). Esto demuestra que los compuestos de los Ejemplos 1-9 son antagonistas de EP4 potentes en el ensayo de inducción de TNF α en sangre humana.

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula:



en la que X es:



5

R¹ es H, -CN o F;

R² es H o metilo

R³ es H; y

R⁴ es H, metilo o etilo; o

10

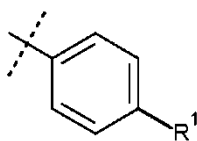
R³ y R⁴ unidos forman conjuntamente un anillo ciclopropilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R² es H.

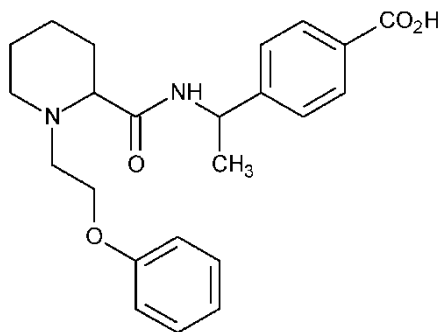
3.- Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R³ es H y R⁴ es metilo.

4.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que X es:



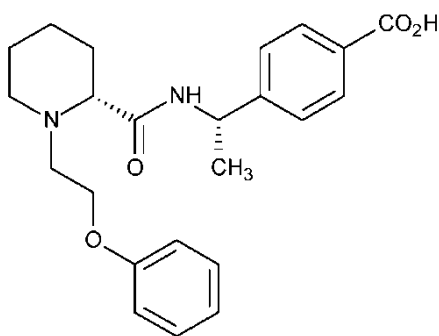
15

5.- El compuesto según la reivindicación 1, que es:



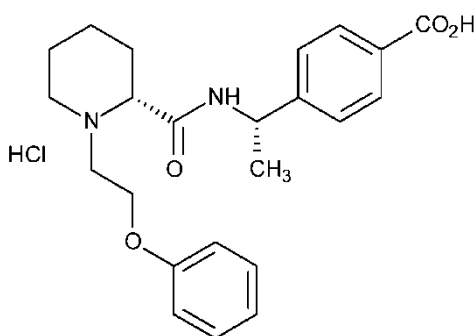
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6.- El compuesto según la reivindicación 5, que es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. - Una sal clorhidrato del compuesto según la reivindicación 6, que es:



- 5 8.- Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en terapia.
- 9.- Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de artrosis.
- 10 10.- Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide.
- 11.- Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento del dolor asociado a artrosis o artritis reumatoide.
- 12.- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 7 en combinación con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 15 13.- La composición farmacéutica según la reivindicación 12, que comprende además uno o más de otros agentes terapéuticos.