(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 651 858**

(51) Int. Cl.:

C07D 217/26	(2006.01)
C07D 221/04	(2006.01)
C07D 221/20	(2006.01)
C07D 207/16	(2006.01)
C07D 209/52	(2006.01)
C07D 211/60	(2006.01)
A61K 31/438	(2006.01)
A61K 31/445	(2006.01)
A61K 31/45	(2006.01)
A61P 19/02	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2014** **PCT/US2014/069743**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015** **WO15094902**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2014** **E 14827907 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017** **EP 3083562**

(54) Título: **Derivados de amina cíclica de fenoxietilo y su actividad como moduladores del receptor EP4**

(30) Prioridad:

17.12.2013 US 201361916827 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.01.2018

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

FISHER, MATTHEW JOSEPH;
KUKLISH, STEVEN LEE;
MANNINEN, PETER RUDOLPH;
SCHIFFLER, MATTHEW ALLEN;
WARSHAWSKY, ALAN M y
YORK, JEREMY SCHULENBURG

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Francisco

ES 2 651 858 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de amina cíclica de fenoxietilo y su actividad como moduladores del receptor EP4

La presente invención se refiere a ciertos compuestos de fenoxietilo novedosos, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, los compuestos para su uso en el tratamiento de trastornos fisiológicos, y a productos intermedios y procesos útiles en la síntesis de los compuestos.

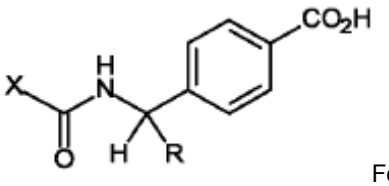
La presente invención está en el campo del tratamiento de afecciones inflamatorias, tales como artritis, que incluye osteoartritis y artritis reumatoide, y que incluye adicionalmente dolor asociado con estas afecciones. La artritis afecta millones de pacientes solo en los Estados Unidos y es la principal causa de discapacidad. Los tratamientos a menudo incluyen NSAID (medicamentos antiinflamatorios no esteroideos) o inhibidores de COX-2, que pueden producir efectos secundarios cardiovasculares adversos. Como tal, los pacientes que tienen un perfil cardiovascular pobre, tal como hipertensión, se pueden excluir de usar NSAIS o inhibidores de COX-2. Por lo tanto, subsiste la necesidad de un tratamiento alternativo de osteoartritis y artritis reumatoide, preferiblemente sin los efectos secundarios de los tratamientos actuales.

Se han identificado cuatro subtipos de receptores de prostaglandina E_2(PGE_2) como los siguientes: EP1, EP2, EP3 y EP4. Se ha descrito que el EP4 es el receptor primario implicado en el dolor inflamatorio de las articulaciones en modelos de roedores con artritis reumatoide y osteoartritis (véase J. Pharmacol. Exp. Ther., 325, 425 (2008)). Por lo tanto, un antagonista de EP4 selectivo puede ser útil en el tratamiento de artritis, que incluye dolor artrítico. Adicionalmente, se ha sugerido que dado que el antagonismo EP4 no interfiere con la biosíntesis de prostanoides, tales como PGI_2 y TxA_2, un antagonista selectivo de EP4 puede no poseer los posibles efectos secundarios cardiovasculares observados con los NSAID y los inhibidores de COX-2. (Véase, por ejemplo, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 21, 484 (2011)).

El documento WO 2013/004290 divulga ciertos derivados de aminas cíclicas que tienen actividad antagonista del receptor EP4. El documento WO 2013/004291 divulga ciertos derivados de aminas cíclicas que tienen actividad agonista del receptor EP4.

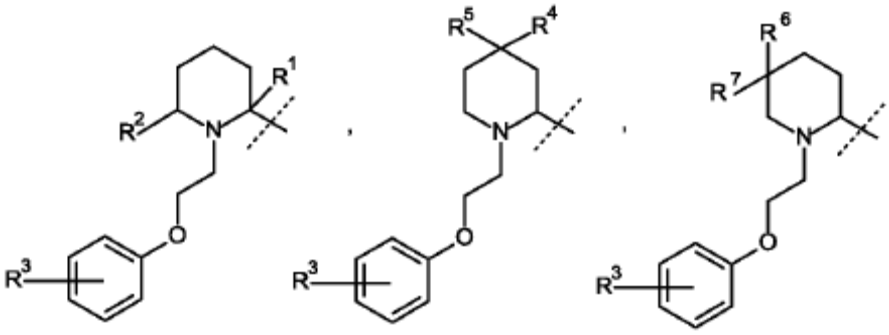
La presente invención proporciona ciertos compuestos novedosos que son inhibidores de EP4 y ciertos compuestos novedosos que son inhibidores selectivos de EP4 con respecto a EP1, EP2 y EP3. Además, la presente invención proporciona ciertos compuestos novedosos con el potencial de efectos secundarios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

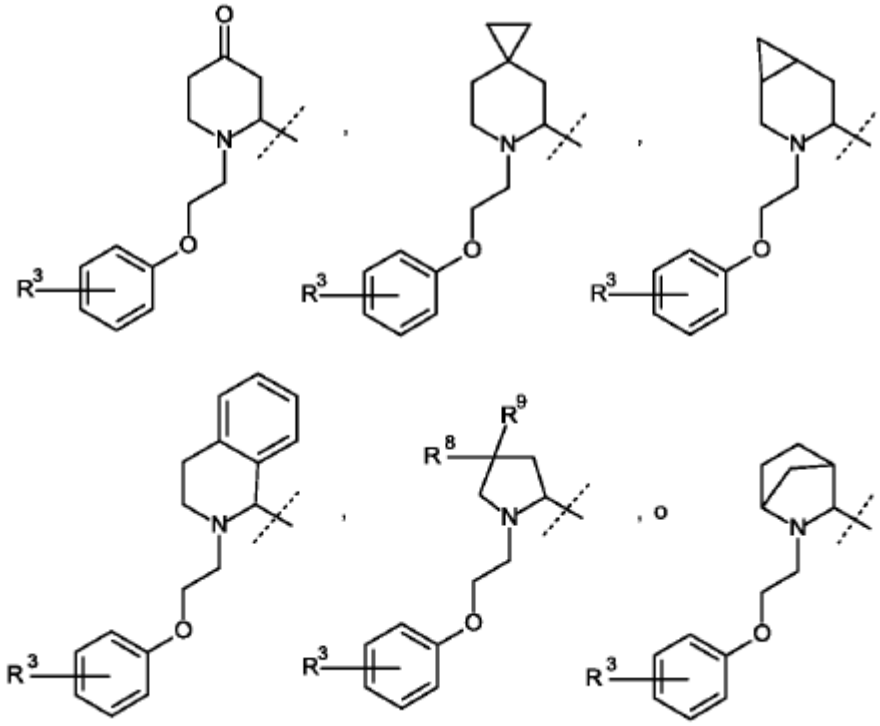
De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:



Fórmula I

en la que X es:





R es H, metilo, o etilo;

R^1 es metilo, cuando R^2 es H, y R^1 es H cuando R^2 es metilo;

R^3 es H o F;

R^4 es H, F, o metilo;

R^5 es OH, metilo, metoxi, o F;

R^6 es H cuando R^7 es OH, y R^6 es F cuando R^7 es F; y

R^8 y R^9 son cada uno independientemente H o F;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención también proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de artritis en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención también proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de osteoartritis en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Adicionalmente, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención también proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de dolor asociado con artritis en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención proporciona adicionalmente un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de dolor asociado con osteoartritis o artritis reumatoide en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Adicionalmente, la invención proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia. Adicionalmente, la invención proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de artritis. Adicionalmente, la invención proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de osteoartritis. Adicionalmente, la invención proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide. La invención también

proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de dolor asociado con osteoartritis o artritis reumatoide. La invención también proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de artritis. Adicionalmente, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de osteoartritis. La invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de dolor asociado con osteoartritis o artritis reumatoide.

La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización particular, la composición comprende adicionalmente uno o más de otros agentes terapéuticos. Esta invención también abarca productos intermedios y procesos novedosos para la síntesis del compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como se utiliza aquí, los términos "tratar" o "para tratar" incluye restringir, ralentizar, detener o revertir la progresión de la gravedad de un síntoma o trastorno existente.

Como se utiliza aquí, el término "paciente" se refiere a un mamífero, tal como un ratón, conejillo de indias, rata, perro o humano. Se entiende que el paciente preferido es un ser humano.

Como se utiliza aquí, el término "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que, luego de administración de dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento.

Una cantidad efectiva se puede determinar fácilmente por el médico que atiende, ya que un experto en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y al observar los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Al determinar la cantidad efectiva para un paciente, la persona que realiza el diagnóstico que atiende considera diversos factores, que incluyen, pero no se limitan a: la especie de mamífero; su tamaño, edad, y salud general; la enfermedad o trastorno específico involucrado; el grado de afectación de la 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 dosis seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes.

El compuesto de la fórmula I, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, son generalmente efectivos en un amplio rango de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente caen dentro del rango de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal. En algunos casos los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del rango mencionado anteriormente pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis mayores con efectos secundarios aceptables, y por lo tanto el rango de dosificación anterior no pretende limitar el alcance de la invención de ninguna manera.

Los compuestos de la invención preferiblemente se formulan como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier ruta que hace el compuesto biodisponible. Aún más preferiblemente, dichas composiciones dichas composiciones son para administración oral. Dichas composiciones farmacéuticas y procesos para preparar los mismos son bien conocidos en la técnica. (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21st Edition, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

Los compuestos de la fórmula I son particularmente útiles en los procedimientos de tratamiento de la invención, pero son preferentes ciertos grupos, sustituyentes y configuraciones. Los siguientes párrafos describen dichos grupos, sustituyentes y configuraciones preferidos. Se entenderá que estas preferencias son aplicables tanto a los procedimientos de tratamiento como a los nuevos compuestos de la invención.

Es preferente que R sea metilo.

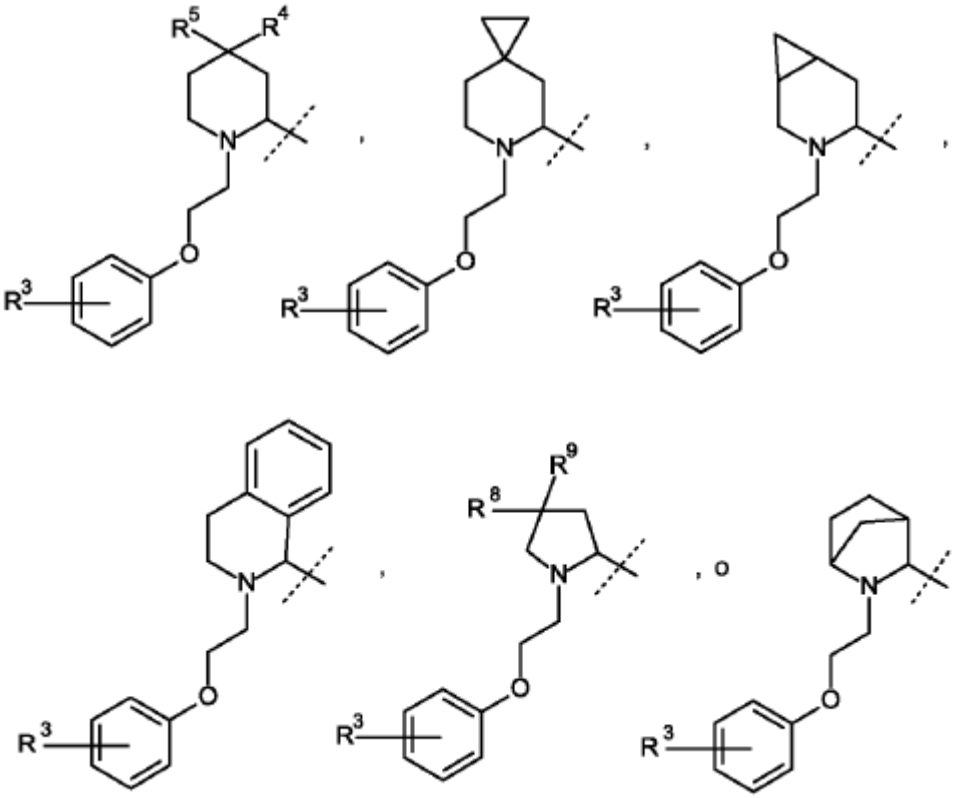
Es aún más preferente que cuando R es metilo, R^3 sea H.

Es preferente que cuando R^4 es F, R^5 sea F.

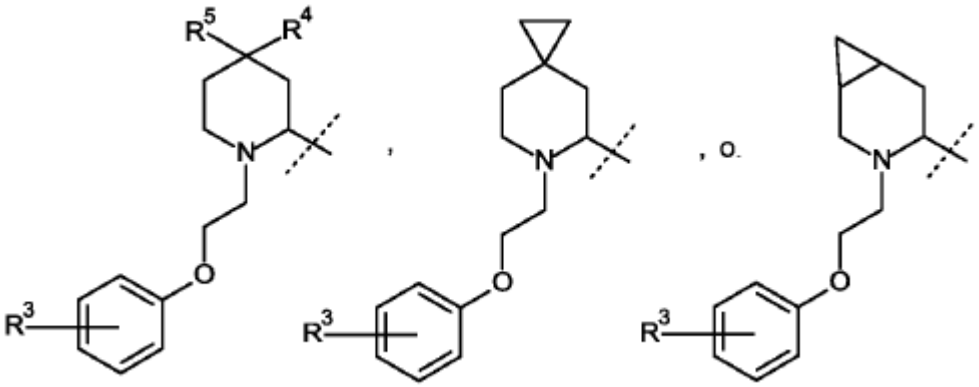
Es adicionalmente preferente que cuando R^4 es metilo, R^5 sea metilo.

Es preferente que cuando R^8 es F, R^9 sea F.

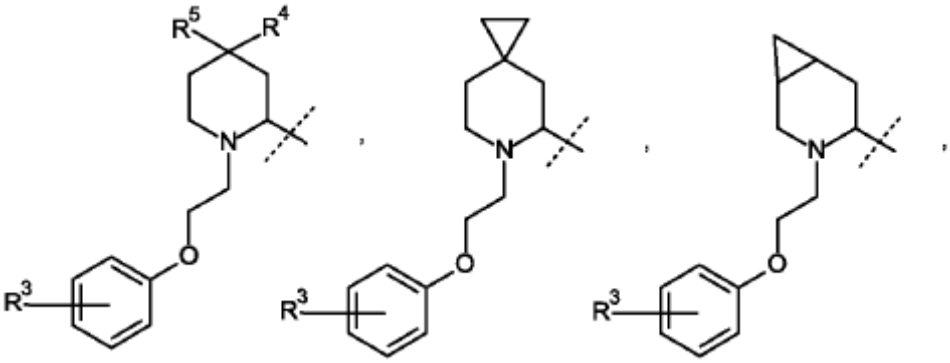
Es preferente que X sea:

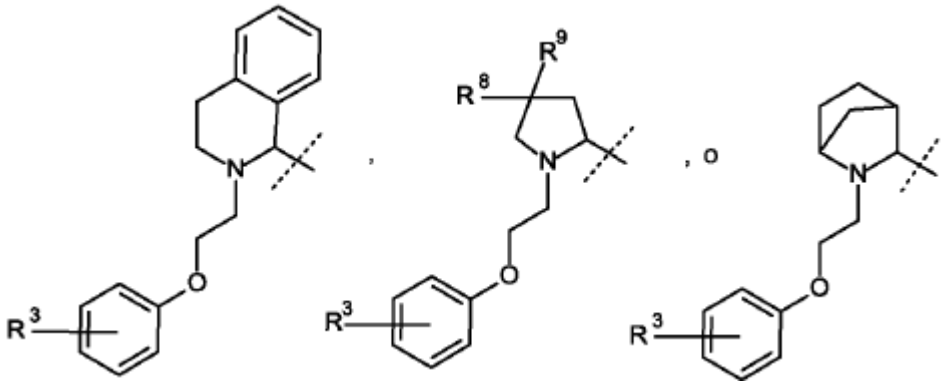


Es aún más preferente que X sea:

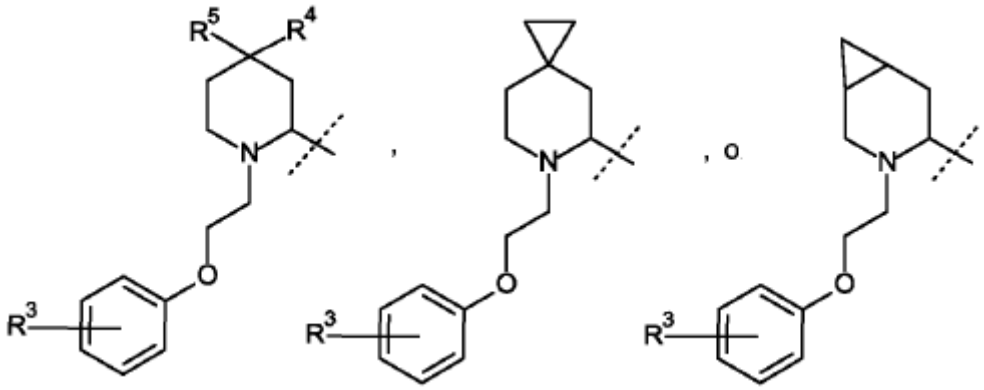


Es aún más preferente que cuando R es metilo, R^3 sea H y X sea:





Es más especialmente preferente que cuando R es metilo, R^3 sea H y X sea:



Son preferentes los compuestos:

ácido 4-((1S)-1-(((1S,3R,4R)-2-(2-fenoxietil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((5R)-6-(2-(4-fluorofenoxi)etil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((5R)-6-(2-fenoxietil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((1S,4R,6S)-3-(2-fenoxietil)-3-azabiciclo[4.1.0]heptano-4-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((2R)-1-(2-fenoxietil)-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((2S)-1-(2-fenoxietil)-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((2R*)-1-(2-fenoxietil)-4,4-dimetilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((2R)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)4,4-difluoropirrolidin-2-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((1R)-2-(2-fenoxietil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-1-carbonil)amino)etil)benzoico;

y las sales farmacéuticamente aceptables de los msimsos.

Especialmenteson preferentes los compuestos:

ácido 4-((1S)-1-(((5R)-6-(2-(4-fluorofenoxi)etil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((5R)-6-(2-fenoxietil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoico;

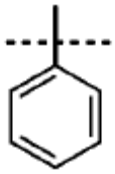
ácido 4-((1S)-1-(((1S,4R,6S)-3-(2-fenoxietil)-3-azabiciclo[4.1.0]heptano-4-carbonil)amino)etil)benzoico;

ácido 4-((1S)-1-(((2R)-1-(2-fenoxietil)-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoico;

y las sales farmacéuticamente aceptables de los msimsos.

Como se utiliza aquí, "h" se refiere a horas; "kPag" se refiere a presión manométrica en kilopascales; "Boc" se refiere a un grupo de protección de tert-butoxicarbonilo; "DMEM" se refiere a medio Eagle modsificado de Dulbecco; "ACN" se refiere a acetonitrilo; "DIEA" se refiere a N,N-diisopropiletilamina; "DMAP" se refiere a 4-(N,N-dimetilamino)piridina; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "DMF" se refiere a N,N-dimetilformamida; "EtOH" se refiere a etanol; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "MeOH" se refiere a metanol; "EtOAc" se refiere a acetato de

etilo; "Et_2O" se refiere a éter de dietilo; "TBME" se refiere a éter de tert-butil metilo; "BOP" se refiere a hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio; "Cbz" se refiere a un grupo de protección de carbamato de benciloxi; "mCPBA" se refiere a ácido 3-cloroperbenzoico; "KHMDS" se refiere a bis(trimetilsilil) amida de potasio; "PGE_2" se refiere a prostaglandina E_2; "FBS" se refiere a Suero de bovino fetal; "IBMX" se refiere a (3-isobutil-1-metilxantina); "MES" se refiere a ácido (2-(N-morfolino)etanosulfónico; "HEPES" se refiere a (ácido 2-[4-(2-hidroxietil)piperazin- 1-il]etanosulfónico); "HTRF" se refiere a tecnología de fluorescencia de resolución temporal homogénea; "HEK" se refiere al riñón embrionario humano; "HBSS" se refiere a Solución Salina Equilibrada de Hank; "EC_{80}" se refiere a la concentración de un agente que produce 80 % de la máxima eficacia posible para ese agente; e "IC_{50}" se refiere a la concentración de un agente que produce el 50 % de la respuesta inhibidora máxima posible para ese agente. "Ph" se refiere a un grupo fenilo de la siguiente estructura:



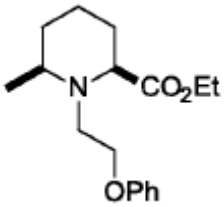
Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs," International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986); Bastin, R.J., et al. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities," Organic Process Research and Development, 4: 427-435 (2000); and Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19, (1977). Un experto en la técnica de síntesis apreciará que los compuestos de la presente invención se convierten fácilmente y se pueden aislar como una sal farmacéuticamente aceptable, tal como una sal de clorhidrato, utilizando técnicas y condiciones bien conocidas por los expertos en el arte. Adicionalmente, un experto en la técnica de la síntesis apreciará que los compuestos de Fórmula I se convierten fácilmente y se pueden aislar como la base libre o ácido libre correspondiente de la sal farmacéuticamente aceptable correspondiente.

La presente invención contempla todos los enantiómeros o diastereómeros individuales, así como las mezclas de los enantiómeros y diastereómeros de dichos compuestos que incluyen racematos. Los isómeros, enantiómeros o diastereómeros individuales se pueden separar o resolver por un experto habitual en la técnica en cualquier punto conveniente en la síntesis de compuestos de la presente invención mediante procedimientos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (véase, por ejemplo, J. Jacques, y col., "Enantiómeros, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, and E.L. Eliel and S.H. Wien," Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994).

El compuesto de la presente invención, o sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden preparar mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, algunos de los cuales se ilustran en los esquemas, preparaciones y ejemplos a continuación. Las etapas sintéticas específicas para cada una de las rutas descritas se pueden combinar de diferentes maneras, o junto con etapas de diferentes esquemas, para preparar el compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los productos de cada etapa en los esquemas a continuación se pueden recuperar por procedimientos convencionales, que incluyen extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración y cristalización. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles para un experto habitual en la técnica. Todos los sustituyentes, a menos que se especifique lo contrario, son como se definieron previamente.

Preparación 1

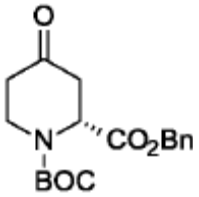
Síntesis de (2R*,6R*)-6-metil-1-(2-fenoxietil)piperidina-2-carboxilato de etilo (racémica).



Bajo una atmósfera de nitrógeno, calentar una mezcla de clorhidrato de (2R*,6R*)-6-metilpiperidina-2-carboxilato de etilo (500 mg, 2,41 mmol), DMF (6,0 ml), carbonato de potasio (998 mg, 7,22 mmol), y β-bromofenetol (494 mg, 2,41 mmol) a 100°C con agitación durante la noche. Permitir a la mezcla de reacción enfriarse a temperatura ambiente, luego diluir con EtOAc (100 ml). Se lava la mezcla con agua (2 x 50 ml) y luego saturar con solución de NaCl acuosa (2 x 50 ml), desechar la fase acuosa después de cada lavado. Secar la fase orgánica sobre $MgSO_4$, retirar los sólidos mediante filtración, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar un aceite amarillo. Someter el material crudo a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 60 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro (200 mg, 29 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 292 $(M + H)^+$.

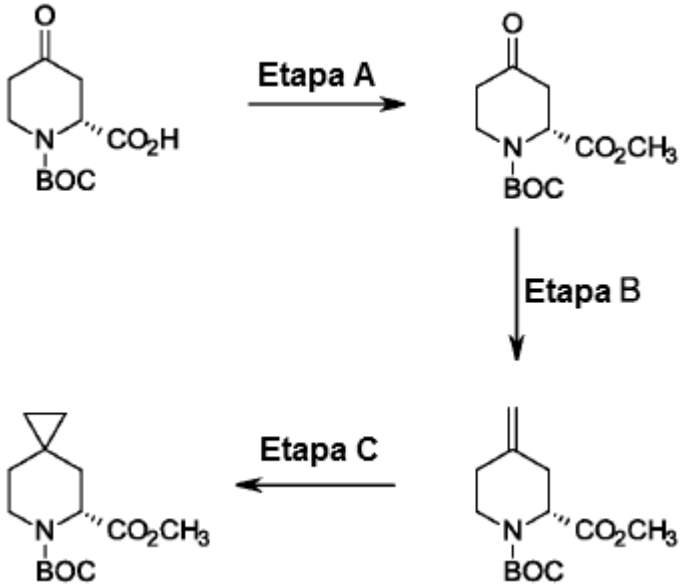
Preparación 2

Síntesis de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxilato de bencilo.



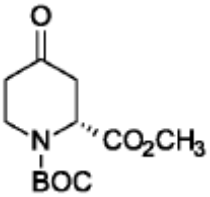
A una solución de ácido (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxílico (7,00 g, 28,8 mmol) en CH_2Cl_2 (100 ml) a 0°C, agregar alcohol bencílico (2,98 ml, 28,8 mmol), diciclohexilcarbodiimida (6,60 g, 31,7 mmol), y DMAP (352 mg, 2,88 mmol). Permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente con agitación durante la noche. Filtrar la mezcla para eliminar los sólidos, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar un material crudo. Someter este material a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 20 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro (6,10 g, 64 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 234 (M + 2H - Boc), 356 $(M + Na)^+$.

Esquema 1



Preparación 3

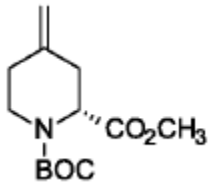
Síntesis de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxilato de metilo.



Esquema 1, Etapa A: A una solución a temperatura ambiente de ácido (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxílico (1,05 g, 4,32 mmol) en DMF (5,0 ml), agregar carbonato de cesio (1,55 g, 4,75 mmol) y agitar durante 5 min. Luego, agregar yodometano (403 µl, 6,47 mmol) en una forma de gotas durante 15 min. Luego de terminación de la adición, agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Luego, agregar agua (25 ml), y extraer la mezcla acuosa con TBME (2 x 75 ml). Secar las fases orgánicas combinadas sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (1,10 g, 99 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 280 $(M + Na)^+$.

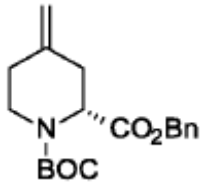
Preparación 4

Síntesis de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-metilenepiperidina-2-carboxilato de metilo.



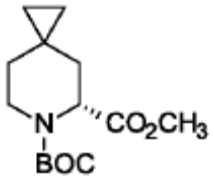
Esquema 1, Etapa B: Bajo una atmósfera de nitrógeno, a una mezcla de 0 ºC de bromuro de metiltrifenilfosfonio (3,90 g, 10,92 mmol) y tolueno anhidro (40 ml), agregar KHMDS (solución de 0,5 M en tolueno, 19 ml, 9,5 mmol) en una forma de gotas durante 15 min. Luego, permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente, luego agitar durante dos horas. Enfriar la mezcla a 0°C, y agregar una solución de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxilato de metilo (1,10 g, 4,28 mmol) en tolueno (40 ml) en una forma de gotas durante 15 min. Permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente, luego agitar durante seis horas y luego mantener la mezcla a temperatura ambiente durante tres días. Agregar una solución acuosa saturada de NH_4Cl (100 ml), y extraer la mezcla con CH_2Cl_2 (2 x 250 ml). Secar las capas orgánicas combinadas sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo resultante a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 40 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título (920 mg, 84 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 278 $(M + Na)^+$, 533 $(2M + Na)^+$.

Preparar el siguiente compuesto esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 4, utilizando la cetona apropiada en lugar de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxilato de metilo:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (m/z)
5	(R)-1-tert-butoxicarbonil-4-metilenepiperidina-2-carboxilato de bencilo		232 $(M + 2H - Boc)^+$, 354 $(M + Na)^+$

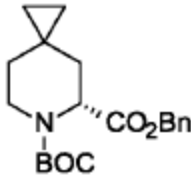
Preparación 6

Síntesis de (R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carboxilato de metilo.



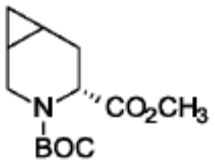
Esquema 1, Etapa C: A una solución a 0 ºC de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-metilenepiperidina-2-carboxilato de metilo (920 mg, 3,60 mmol) en Et_2O (25 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno, agregar diazometano (solución de 0,72 M en Et_2O, 25 ml, 18,0 mmol) en una forma de gotas durante 45 minutos. Durante la adición de diazometano, agregar siete porciones de $Pd(OAc)_2$ (25 mg, 0,11 mmol; total 175 mg, 0,77 mmol) en intervalos de seis minutos. Permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente con agitación durante la noche. Agregar ácido acético (100 µl, 1,75 mmol), luego retirar los sólidos mediante filtración, enjuagar con CH_2Cl_2 (10 ml). Concentrar los filtrados combinados bajo presión reducida para suministrar una mezcla que contiene el compuesto del título (1,08 g, 111 % de rendimiento nominal). Espectro de masa (m/z): 292 $(M + Na)^+$.

Preparar el siguiente compuesto esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 6, utilizando el alqueno apropiado en lugar de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-metilenepiperidina-2-carboxilato de metilo:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (m/z)
7	(R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carboxilato de bencilo		246 $(M + 2H - Boc)^+$

Preparación 8

Síntesis de (1R*,4R,6R*)-3-tert-butoxicarbonil-3-azabiciclo[4.1.0]heptano-4-carboxilato de metilo.

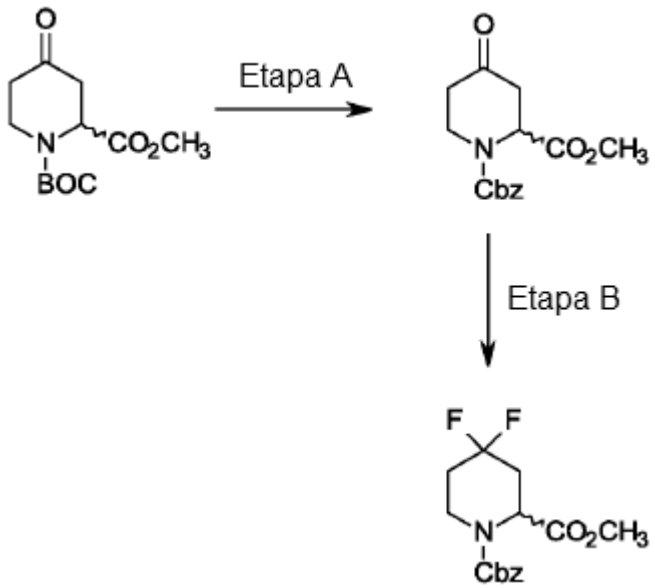


Tanda 1, A una solución a 0 ºC de (R)-1-tert-butoxicarbonil-3,6-dihidro-2H-piridina-2-carboxilato de metilo (800 mg, 3,32 mmol) en éter de dietilo (50 ml), agregar diazometano (solución de 0,72 M en Et_2O, 50 ml, 36,0 mmol) en porciones de 1,0-ml durante 15 minutos. Durante la adición de diazometano, agregar cuatro porciones de $Pd(OAc)_2$ (12,5 mg, 0,055 mmol; total 50 mg, 0,22 mmol) en intervalos de tres minutos. Agitar la mezcla durante 35 min, luego agregar ácido acético (1,0 ml, 17,5 mmol) y EtOAc (100 ml). Lavar la mezcla combinada con $NaHCO_3$ acuoso saturado (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml). Secar la fase orgánica sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar un aceite marrón crudo (898 mg) como una mezcla 87:13 del compuesto del título y alqueno de partida sin reaccionar.

Tanda 2. A una solución a 0 ºC de (R)-1-tert-butoxicarbonil-3,6-dihidro-2H-piridina-2-carboxilato de metilo (800 mg, 3,32 mmol) en éter de dietilo (50 ml), agregar diazometano (solución de 0,72 M en Et_2O, 50 ml, 36,0 mmol) en porciones de 1,0-ml durante 15 minutos. Durante la adición de diazometano, agregar cuatro porciones de $Pd(OAc)_2$ (12,5 mg, 0,055 mmol; total 50 mg, 0,22 mmol) en intervalos de tres minutosa. Agitar la mezcla durante 35 min, luego agregar ácido acético (1,0 ml, 17,5 mmol) y EtOAc (100 ml). Lavar la mezcla combinada con $NaHCO_3$ acuoso saturado (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml). Secar la fase orgánica sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar un aceite marrón crudo (841 mg) como una mezcla 86:14 del compuesto del título y alqueno de partida sin reaccionar.

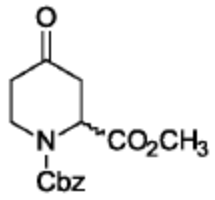
Disolver el material crudo combinado de la Tanda 1 y 2 (1,74 g) en CH_2Cl_2 (18,7 ml) y enfriar a 0°C. Agregar mCPBA (647 mg, 1,87 mmol) y permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente durante la noche con agitación. Agregar una segunda porción de mCPBA (323 mg, 0,88 mmol) y agitar durante unas 5,5 horas adicionales a temperatura ambiente. Agregar Na_2SO_3 acuoso saturado (8 ml) y agitar de forma vigorosa durante 10 min. Diluir la mezcla con EtOAc (150 ml), y lavar con $NaHCO_3$ acuoso saturado (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml). Secar la fase orgánica sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo resultante a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 100 % de CH_2Cl_2 en hexanos luego con un gradiente de 0 % a 10 % de CH_3OH en CH_2Cl_2, para suministrar el compuesto del título como una mezcla de dos diastereómeros (1,39 g, 85 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 156 $(M + 2H - Boc)^+$.

Esquema 2



Preparación 9

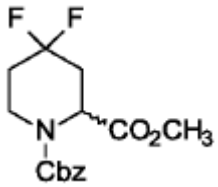
Síntesis de 1-benciloxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxilato de (±)-metilo (racémico).



Esquema 2, Etapa A: Disolver 1-tert-butoxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxilato de (±)-metilo racémico (5,00 g, 19,4 mmol) en una solución de HCl en 1,4-dioxano (4,0 M, 48.6 ml, 194 mmol) y agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Concentrar la mezcla bajo presión reducida y colocar en un horno de vacío a 40 ºC durante 2 h para eliminar ácido residual. Luego, agregar CH_2Cl_2 (97 ml), cloroformato de bencilo (3,65 g, 21,38 mmol), y DIEA (7,46 ml, 42,8 mmol), y agitar a temperatura ambiente durante 2 días. Agregar ácido clorhídrico acuoso (1,0 N, 100 ml), y agitar la mezcla de forma vigorosa durante 15 min. Separar la capa orgánica, secar sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar bajo presión reducida para suministrar un aceite naranja crudo. Someter el material crudo a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 50 % a 100 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro, viscoso (2,44 g, 43 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 292 $(M + H)^+$, 314 $(M + Na)^+$.

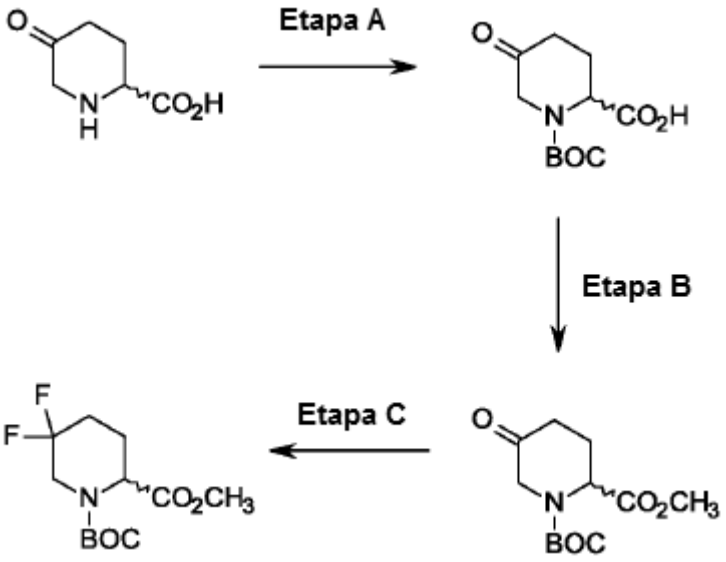
Preparación 10

Síntesis de 1-benciloxicarbonil-4,4-difluoropiperidina-2-carboxilato de (±)-metilo (racémico).



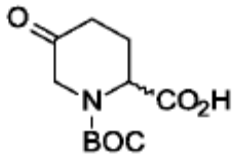
Esquema 2, Etapa B: Enfriar una solución de 1-benciloxicarbonil-4-oxopiperidina-2-carboxilato de (±)-metilo racémico (2,44 g, 8,38 mmol) en THF (25 ml) a 0°C, luego agregar trifluoruro de dietilaminoazufre (10,1 g, 62,8 mmol) en forma de gotas a dicha tasa de tal manera que la temperatura interna permanece por debajo de 5°C. Agitar la mezcla a 0°C durante 2 h, luego a temperatura ambiente durante la noche. Enfriar la mezcla a 0°C y agregar agua (50 ml) cuidadosamente en una forma de gotas a dicha tasa de tal manera que la temperatura interna permanece por debajo de 20°C. Agregar EtOAc (250 ml), agua (50 ml), y $NaHCO_3$ acuoso saturado (200 ml), luego separar las capas y lavar la capa orgánica con NaCl acuoso saturado (200 ml), secar sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo resultante a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 20 % a 70 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro, viscoso (1,24 g, 47 %). Espectro de masa (m/z): 314 $(M + H)^+$, 331 (M + NH4)+, 336 $(M + Na)^+$.

Esquema 3



Preparación 11

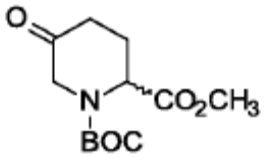
Síntesis de ácido (±)-1-tert-butoxicarbonil-5-oxopiperidina-2-carboxílico (racémico).



Esquema 3, Etapa A: A una mezcla agitada de ácido (±)-5-oxopiperidina-2-carboxílico (1,00 g, 6,99 mmol) y CH_2Cl_2 (14,0 ml) a 0°C, agregar di-tert-butildicarbonato (1,60 g, 7,34 mmol) y trietilamina (1,07 ml, 7,68 mmol), y permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente con agitación durante la noche. Agregar una solución acuosa de HCl (1,0 N) hasta que el pH alcanza 3,0, luego extraer la mezcla con EtOAc (3 x 25 ml). Lavar las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado (50 ml), secar sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido color tostado (1,30 g, 77 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 144 $(M + 2H - Boc)^+$, 188 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$, 266 $(M + Na)^+$.

Preparación 12

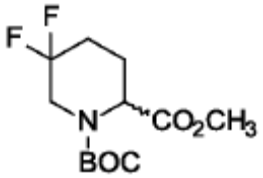
Síntesis de 1-tert-butoxicarbonil-5-oxopiperidina-2-carboxilato de (±)-metilo (racémico).



Esquema 3, Etapa B : A una mezcla agitada de ácido (±)-1-tert-butoxicarbonil-5-oxopiperidina-2-carboxílico (1,30 g, 5,34 mmol) en tolueno (8 ml) y CH_3OH (2 ml) a 0°C, agregar trimetilsilildiazometano (2,94 ml, 5,34 mmol) en forma de gotas, luego permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente y agitar durante 1 h. Concentrar la mezcla bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un aceite amarillo claro (1,30 g, 95 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 158 $(M + 2H - Boc)^+$, 202 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$.

Preparación 13

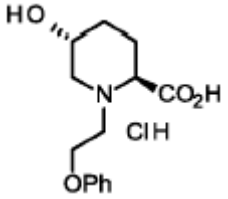
Síntesis de 1-tert-butoxicarbonil-5,5-difluoropiperidina-2-carboxilato de (±)-metilo (racémico).



Esquema 3, Etapa C : A una mezcla a temperatura ambiente con agitación de trifluorhidrato de trietilamina (4,9 ml, 30,3 mmol), CH_2Cl_2 (42,9 ml), y trietilamina (1,76 ml, 12,6 mmol), agregar tetrafluoroborato de N,N-Dietilamino-S,S-difluorosulfinio (5,21 g, 22,74 mmol), seguido por una solución de 1-tert-butoxicarbonil-5-oxopiperidina-2-carboxilato de (±)-metilo (1,30 g, 5,05 mmol) en CH_2Cl_2 (2,53 ml), luego agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Con agitación vigorosa, agregar cuidadosamente una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (100 ml) (Precaución! Efervescencia intensa!), luego extraer la mezcla con CH_2Cl_2 (2 x 100 ml). Secar las fases orgánicas combinadas sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo resultante a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 5 % a 30 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro (610 mg, 43 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 302 $(M + Na)^+$.

Preparación 14

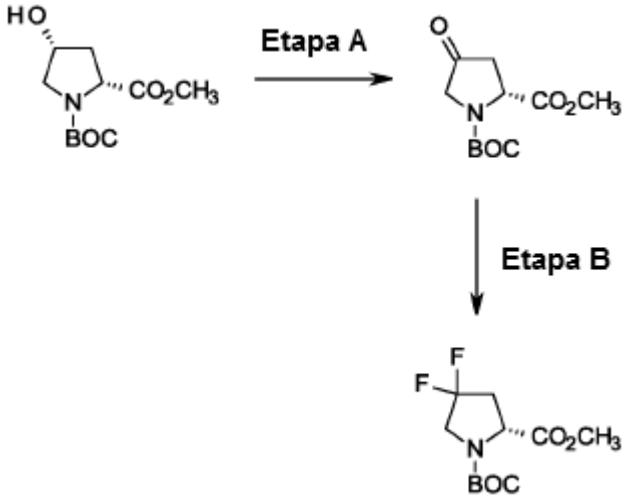
Síntesis de clorhidrato de ácido (2R*,5S*)-1-(2-fenoxietil)-5-hidroxipiperidina-2-carboxílico (racémico).



Agitar una mezcla de ácido (2R*,5S*)-5-hidroxipiperidina-2-carboxílico racémico (150 mg, 1,03 mmol), 2-fenoxiacetaldehído (281 mg, 2,07 mmol), ácido acético (59 µl, 1,03 mmol), y 1,2-dicloroetano (5,2 ml) a temperatura ambiente durante 30 min. Agregar triacetoxiborohidruro de sodio (307 mg, 1,45 mmol) y agitar la mezcla a

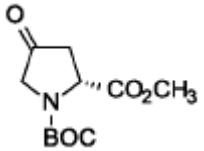
temperatura ambiente durante la noche. Concentrar la mezcla bajo presión reducida, luego agregar 1,4-dioxano (5 ml) y una solución de HCl en 1,4-dioxano (4,0 M, 3,0 ml, 12,0 mmol). Agitar la suspensión resultante durante 10 min, luego retirar los sólidos mediante filtración y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título (320 mg, 100 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 266 $(M + H)^+$, 288 $(M + Na)^+$.

Esquema 4



Preparación 15

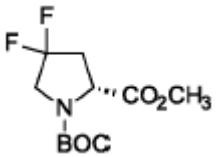
Síntesis de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopirrolidina-2-carboxilato de metilo.



Esquema 4, Etapa A: Agitar una mezcla de éster de metilo de N-tert-butil-cis-4-hidroxi-D-prolina (2,0 g, 7,91 mmol), el peryodinano de Dess-Martin (4,84 g, 11,07 mmol), y CH_2Cl_2 (10 ml) a temperatura ambiente durante 2 h. Agregar CH_2Cl_2 (150 ml), $NaHCO_3$ acuoso saturado (75 ml), y agua (75 ml), luego separar las capas y extraer la capa acuosa con CH_2Cl_2 (100 ml). Combinar las fases orgánicas, secar sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo resultante a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 50 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título (1,39 g, 72 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 144 $(M + 2H - Boc)^+$, 188 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$.

Preparación 16

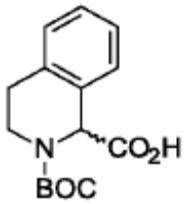
Síntesis de (R)-1-tert-butoxicarbonil-4,4-difluoropirrolidina-2-carboxilato de metilo.



Esquema 4, Etapa B: Bajo una atmósfera de nitrógeno, disolver (R)-1-tert-butoxicarbonil-4-oxopirrolidina- 2-carboxilato de metilo (270 mg, 1,11 mmol) en CH_2Cl_2 (2,22 ml) y agregar trifloruro de bis(2-metoxietil)aminoazufre (491 mg, 2,22 mmol). Agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche, luego verter la mezcla sobre una mezcla de hielo (50 ml) y $NaHCO_3$ acuoso saturado (50 ml). Agitar durante 15 minutos, luego extraer con EtOAc (50 ml), y concentrar la fase orgánica bajo presión reducida. Someter el material crudo resultante a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 10 % a 50 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como una mezcla de 53:47 de rotámeros de carbamato (206 mg, 70 % de rendimiento). ^1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 4,54 (dd, J = 8,8, 6,0 Hz, 0,47 H), 4,44 (dd, J = 9,1, 4,9 Hz, 0,53 H), 3,90-3,74 (m, 2H), 3,762 (s, 1,59 H), 3,759 (s, 1,41 H), 2,78-2,61 (m, 1H), 2,52-2,39 (m, 1H), 1,47 (s, 4,23 H), 1,42 (s, 4,77 H).

Preparación 17

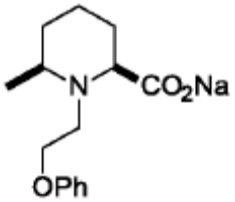
Síntesis de ácido (±)-2-tert-butoxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-1-carboxílico (racémico).



A una mezcla agitada de ácido (±)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-1-carboxílico (150 mg, 0,85 mmol) y CH_2Cl_2 (1,69 ml) a 0°C, agregar di-tert-butildicarbonato (185 mg, 0,85 mmol) y trietilamina (177 µl, 1,27 mmol). Permitir que la mezcla se caliente a temperatura ambiente con agitación durante la noche. Agregar una solución acuosa de HCl (1,0 N) hasta que el pH alcanza 3,0, luego extraer la mezcla con EtOAc (3 x 25 ml). Lavar las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado (50 ml), secar sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título (235 mg, 100 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 222 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$, 300 $(M + Na)^+$, 577 $(2M + Na)^+$.

Preparación 18

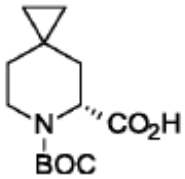
Síntesis de (2R*,6R*)-6-metil-1-(2-fenoxietil)piperidina-2-carboxilato de sodio (racémico).



Disolver (2R*,6R*)-6-metil-1-(2-fenoxietil)piperidina-2-carboxilato de etilo (200 mg, 0,69 mmol) en una mezcla de THF (1,0 ml) y CH_3OH (1,0 ml), luego agregar una solución acuosa de NaOH (5,0 N, 275 µl, 1,37 mmol) y agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Concentrar la mezcla bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título (196,5 mg, 100 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 264 $(M + H)^+$, 549 $(2M + Na)^+$.

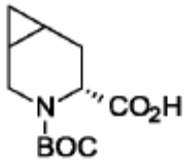
Preparación 19

Síntesis de ácido (R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2,5]octano-5-carboxílico.

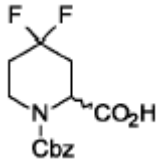
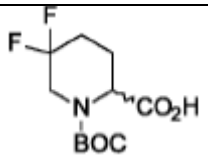
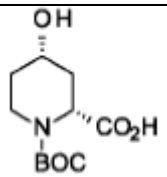
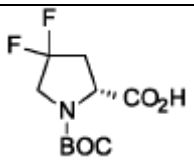


Disolver (R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carboxilato de metilo (1,08 g, 4,01 mmol) en una mezcla de THF (20 ml) y CH_3OH (10 ml), luego agregar una solución acuosa de NaOH (2,0 N, 10 ml, 20 mmol) y agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 1,5 h. Agregar una solución acuosa de HCl (1,0 N) hasta que el pH alcanza 1,0, luego extraer la mezcla con EtOAc (3 x 50 ml). Lavar las capas orgánicas combinadas con una solución de NaCl acuosa saturada (50 ml), separar las capas, secar la capa orgánica sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar una mezcla que contiene el compuesto del título (850 mg, 83 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 156 $(M + 2H - Boc)^+$, 278 $(M + Na)^+$.

Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 19, utilizando los ésteres apropiados en lugar de (R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carboxilato de metilo:

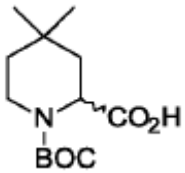
No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	RMN
20	ácido (1R*,4R,6R*)-3-tert-butoxicarbonil-3-azabiciclo[4.1.0]heptano-4-carboxílico		142 $(M + 2H - Boc)^+$, 186 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$, 264 $(M + Na)^+$	

(continuación)

No.	Nombre químico	Estructura	MS (m/z)	RMN
21	ácido (±)-1-benciloxicarbonil-4,4-difluoropiperidina-2-carboxílico		317 (M + NH4)+, 322 $(M + Na)^+$	
22	ácido (±)-1-tert-butoxicarbonil-5,5-difluoropiperidina-2-carboxílico		288 $(M + Na)^+$	
23	Ácido (2*R*,4*S*)-1-*tert*-butoxicarbonil-4-hidroxipiperidina-2-carboxílico		($CDCl_3$, 400 MHz) δ 4,87-4,78 (m, 0,6H), 4,71-4,64 (m, 0,4H), 4,20-4,15 (m, 1H), 3,94-3,85 (m, 0,4H), 3,85-3,73 (m, 0,6H), 3,45-3,27 (m, 1H), 2,46-2,42 (m, 0,4H), 2,42-2,37 (m, 0,6H), 1,94 (dd, *J* = 6,9, 2,4 Hz, 0,6H), 1,90 (dd, *J* = 6,8, 2,4 Hz, 0,4H), 1,77-1,61 (m, 4H), 1,47 (s, 9H)	
24	Ácido (*R*)-1-*tert*-butoxicarbonil-4,4-difluoropirrolidina-2-carboxílico		(CD_3OD, 400 MHz) δ 4,48 (dd, *J* = 9,2, 4,8 Hz, 0,35H), 4,44 (dd, *J* = 9,2,4,8 Hz, 0,65H), 3,83-3,68 (m, 2H), 2,90-2,74 (m, 1H), 2,53-2,41 (m, 1H), 1,46 (s, 3,15H), 1,42 (s, 5,85H)	

Preparación 25

Síntesis de ácido (±)-1-tert-butoxicarbonil-4,4-dimetilpiperidina-2-carboxílico

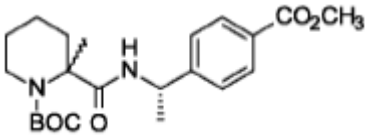


En un agitador Parr, presurizar una mezcla de (R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carboxilato de bencilo (600 mg, 1,74 mmol), ácido acético glacial (10 ml), y 5 % de paladio sobre carbono (100 mg, 0,047 mmol) a 413,7 kPag con hidrógeno. Agitar a temperatura ambiente durante una hora, luego liberar la presión y retirar los sólidos mediante filtración, enjuagar con ácido acético (10 ml). Colocar el filtrado en un recipiente a presión y agregar óxido de platino (V) (225 mg, 0,99 mmol). Presurizar el recipiente a 1724 kPag con hidrógeno, y agitar a 100°C durante la noche. Enfriar el recipiente a temperatura ambiente y liberar la presión. Retirar los sólidos mediante filtración, enjuagar con ácido acético. Concentrar el filtrado bajo presión reducida. Agregar tolueno (10 ml), y de nuevo concentrar bajo presión reducida para suministrar una película cruda, incolora (329 mg).

A este material crudo, agregar una solución acuosa de hidróxido de sodio (2,0 N, 6,3 ml, 12,5 mmol). Luego, agregar una solución de di-tert-butildicarbonato (300 mg, 1,7 mmol) en 1,4-dioxano (3,4 ml) y agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Agregar di-tert-butildicarbonato (152 mg, 0,70 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante 6 h. Neutralizar la mezcla a pH 7 con HCl acuoso 1,0 N, luego agregar EtOAc (15 ml). Acidificar la capa acuosa a pH 3 con HCl 1,0 N, luego extraer la capa acuosa con EtOAc (3 x 15 ml) y CH_2Cl_2 (3 x 15 ml). Acidificar adicionalmente la capa acuosa a pH 2 con HCl acuoso 1,0 N, luego extraer con EtOAc (5 x 15 ml). Combinar la capa orgánicas, secar sobre Na_2SO_4, retirar los sólidos mediante filtración, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como una película incolora (85,5 mg, 22 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 158 $(M + H)^+$.

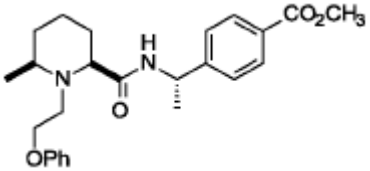
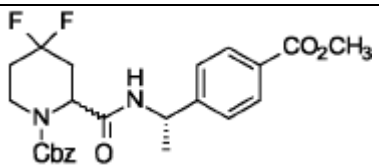
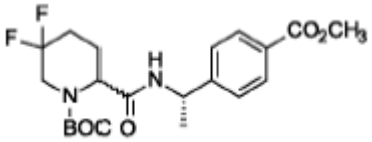
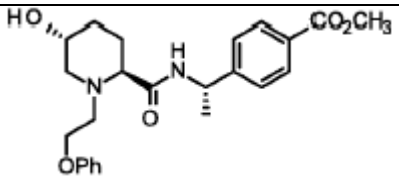
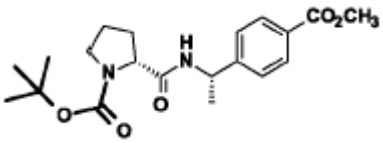
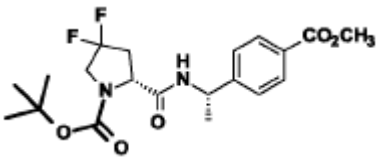
Preparación 26

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

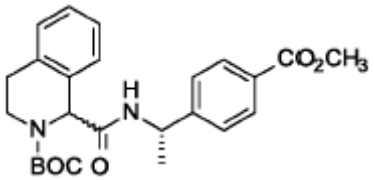


Agregar ácido (±)-1-tert-butoxicarbonil-2-metilpiperidina-2-carboxílico (200 mg, 0,82 mmol) y clorhidrato de 4-((S)-1-aminoetil)benzoato de metilo (177 mg, 0,82 mmol) a DMF (1,6 ml), luego agregar trietilamina (401 ml, 2,9 mmol), seguido por BOP (472 mg, 1,07 mmol). Agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Diluir la mezcla con EtOAc (25 ml) y lavar con NaCl acuoso saturado (2 x 25 ml). Secar la capa orgánica sobre $MgSO_4$, filtrar para eliminar los sólidos, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 20 % a 100 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro (158 mg, 48 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 305 $(M + 2H - Boc)^+$.

Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 26, utilizando los ácidos carboxílicos apropiados en lugar de ácido 1-tert-butoxicarbonil-2-metilpiperidina-2-carboxílico:

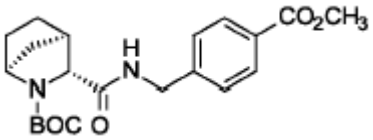
No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m*/*z*)
27	4-((1S)-1-((2R*,6R*)-(1-(2-fenoxietil)-6-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		425 $(M + H)^+$
28	4-((1S)-1-(((2R*)-1-benciloxicarbonil-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		461 $(M + H)^+$, 483 $(M + Na)^+$
29	4-((1S)-1-(((2R*)-1-tert-butoxicarbonil-5,5-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		327 $(M + 2H - Boc)^+$, 449 $(M + Na)^+$
30	4-((1*S*)-1-((2*R**,5*S**)-(1-(2-fenoxietil)-5-hidroxipiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		427 $(M + H)^+$, 465 (M + K)+
31	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-*1-tert*-butoxicarbonilpirrolidin -2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo	Absoluto 	277 $(M + 2H - Boc)^+$, 321 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$, 377 $(M + H)^+$, 399 $(M + Na)^+$
32	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-*tert*-butoxicarbonil-4,4-difluoropirrolidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo	Absoluto 	313 $(M + 2H - Boc)^+$, 357 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$, 435 $(M + Na)^+$, 451 (M + K)+

(continuación)

No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)
33	4-((1S)-1-(((1*R*)*-2-*tert*-butoxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-1-carbonil)amino)etil)benzoato de de metilo		339 (M + 2H - Boc)$^+$, 383 (M + 2H -*t*-Bu)$^+$, 439 (M + H)$^+$, 461 (M + Na)$^+$

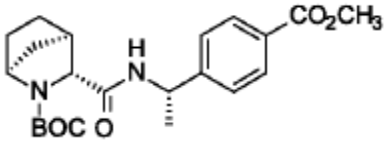
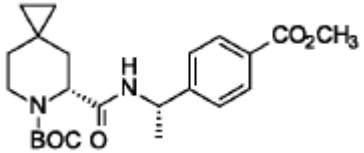
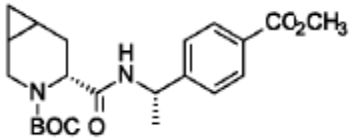
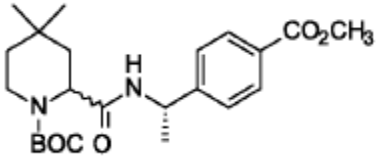
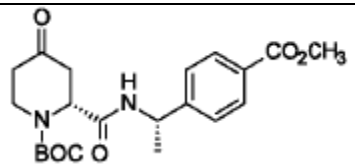
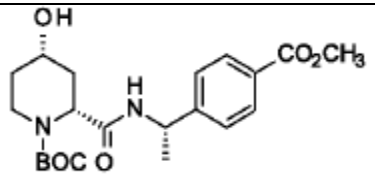
Preparación 34

Síntesis de 4-(((1S,3R,4R)-2-tert-butoxicarbonil-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)aminometil)benzoato de metilo.



Agitar una mezcla de ácido (1S,3R,4R)-2-tert-butoxicarbonil-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico (253 mg, 1,05 mmol), clorhidrato de 4-(aminometil)benzoato de metilo (260 mg, 1,29 mmol), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (60 mg, 0,39 mmol), trietilamina (600 µl, 4,30 mmol), EDC (300 mg, 1,56 mmol), y CH_2Cl_2 (20 ml) a temperatura ambiente durante dos días. Lavar la mezcla con una solución acuosa de ácido clorhídrico (1,0 N, 25 ml), seguido por una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (50 ml) y una solución acuosa saturada de NaCl (50 ml). Secar la fase orgánica sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar bajo presión reducida para suministrar un aceite vítreo que contiene aproximadamente 85 % del compuesto del título en masa (450 mg, 94 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 289 (M + 2H - Boc)$^+$, 333 (M + 2H - t-Bu)$^+$, 411 (M + Na)$^+$.

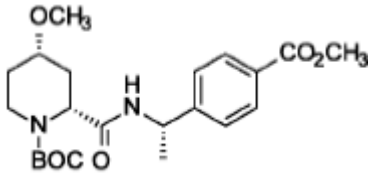
Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 34, utilizando los ácidos carboxílicos apropiados en lugar de ácido (1S,3R,4R)2-tert-butoxicarbonil-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico, y utilizando clorhidrato de 4-((S)- 1-aminoetil)benzoato o metil 4-((S)-1-aminoetil)benzoato de metilo en lugar de clorhidrato de 4-(aminometil)benzoato de metilo:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
35	4-((1*S*)-1-(((1*S*,3*R*,4*R*)-2-*tert*-butoxicarbonil-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		303 (M + 2H -Boc)$^+$, 347 (M + 2H -*t*-Bu)$^+$, 403 (M + H)$^+$, 425 (M + Na)$^+$	
36	4-((1*S*)-1-(((5*R*)-6-*tert*-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		317 (M + 2H -Boc)$^+$, 361 (M + 2H -*t*-Bu)$^+$, 439 (M + Na)$^+$	a
37	4-((1*S*)-1-(((1*R**,4*R*,6*R**)-3-*tert*-butoxicarbonil-3-azabiciclo[4.1.0]heptano-4-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		303 (M + 2H -Boc)$^+$, 347 (M + 2H -*t*-Bu)$^+$, 403 (M + H)$^+$, 425 (M + Na)$^+$	b
38	4-((1*S*)-1-(((2*R**)-1-*tert*-butoxicarbonil-4,4-dimetilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		319 (M+2H-Boc)$^+$, 441 (M + Na)$^+$	b
39	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-*tert*-butoxicarbonil-4-oxopiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		305 (M + 2H -Boc)$^+$, 349 (M + 2H -*t*-Bu)$^+$, 427 (M + Na)$^+$	b
40	4-((1*S*)-1-(((2*R*,4*S*)-1-*tert*-butoxicarbonil-4-hidroxipiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		307 (M + 2H -Boc)$^+$, 351 (M + 2H -*t*-Bu)$^+$, 407 (M + H)$^+$, 429 (M + Na)$^+$	b

a) Purificar el producto mediante cromatografía de fase inversa sobre gel de sílice C18, eluir con 0,1 % de ácido fórmico en un gradiente de agua/acetonitrilo. b) Purificar el producto mediante cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiante de EtOAc/hexanos.

Preparación 41

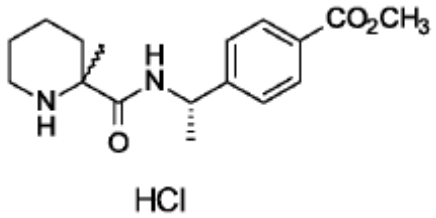
Síntesis de 4-((1S)-1-(((2R,4S)-1-tert-butoxocarbonil-4-metoxipiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo.



Enfriar una mezcla de 4-((1S)-1-(((2R,4S)-1-tert-butoxicarbonil-4-hidroxipiperidin-2-carbonil)amino) etil)benzoato de metilo (440 mg, 1,08 mmol), THF (5,0 ml), y yodometano (67 ml, 1,08 mmol) a 0°C, luego agregar hidruro de sodio (60 % de dispersión en aceite mineral, 43,3 mg, 1,08 mmol) y agitar durante 2 h a 0°C. Agregar una segunda porción de hidruro de sodio (60 % de dispersión en aceite mineral, 43,3 mg, 1,08 mmol), agitar a 0°C durante 3 h, luego permitir calentar a temperatura con agitación durante la noche. Agregar una solución acuosa saturada de NH_4Cl (5 ml), luego extraer la mezcla con EtOAc (10 ml). Lavar las capas orgánicas combinadas con una solución acuosa saturada de NaCl (10 ml), luego secar sobre Na_2SO_4, retirar los sólidos mediante filtración, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 40 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro, claro (128 mg, 28 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 365 $(M + 2H - t\text{-}Bu)^+$, 421 $(M + H)^+$.

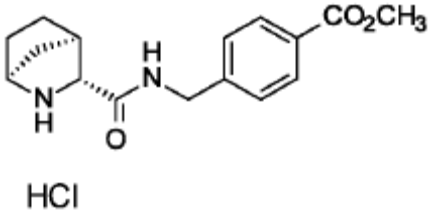
Preparación 42

Síntesis de clorhidrato de 4-((1S)-1-(((2R*)-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo.

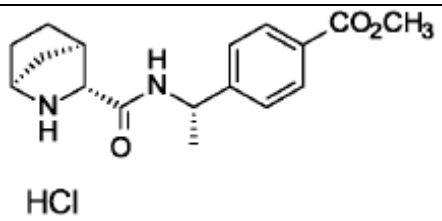
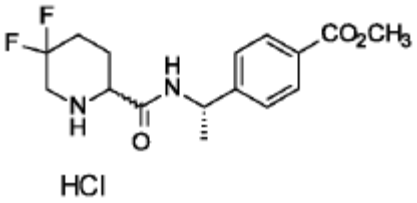
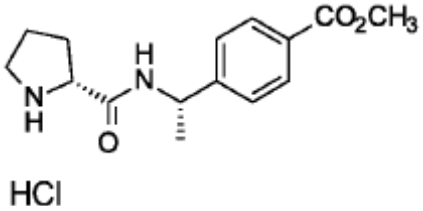
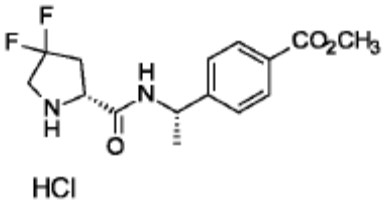
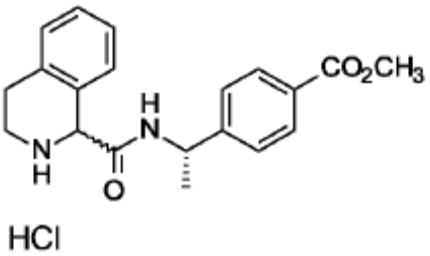


Tratar 4-((1S)-1-(((2R*)-1-tert-butoxicarbonil-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (158 mg, 0,39 mmol) con una solución 4,0 M de cloruro de hidrógeno en dioxano (2,0 ml, 8,0 mmol) y agitar durante una hora a temperatura ambiente. Concentrar la mezcla bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (133 mg, 100 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 305 $(M + H)^+$.

Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 42, utilizando los carbamatos de tert-butilo apropiados en lugar de 4-((1S)-1-(((2R*)-1-tert-butoxicarbonil-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
43	Clorhidrato de 4-(((1*S*,3*R*,4*R*)-2-azabiciclo[2.2.1]hepta n-3-carbonil)aminometil)benzoato de metilo		289 $(M + H)^+$, 599 $(2M + Na)^+$	a,b

(continuación)

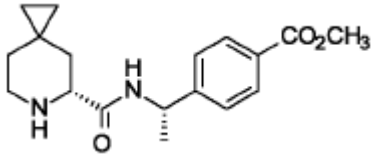
No.	Nombre químico	Estructura	MS (m/z)	Nota
44	Clorhidrato de 4-((1*S*)-1-(((1*S*,3*R*,4*R*)-2-azabiciclo[2.2.1]hepta n-3-carbonil)amino)etil) benzoato de metilo		303 (M + H)+, 605 (2M + H)+, 627 (2M + Na)+	a,c
45	Clorhidrato de 4-((1*S*)-1-(((2*R**)-5,5-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoato de metilo		327 (M + H)+, 653 (2M + H)+, 675 (2M + Na)+	
46	Clorhidrato de 4-((1*S*)-1-(((2*R*)-pirrolidin-2-carbonil)amino)etil) benzoato de metilo		277 (M + H)+, 553 (2M + H)+, 575 (2M + Na)+	d
47	Clorhidrato de 4-((1*S*)-1-(((2*R*)-4,4-difluoropirrolidin-2-carbonil)amino)etil) benzoato de metilo		313 (M + H)+, 625 (2M + H)+, 647 (2M + Na)+	d
48	Clorhidrato de 4-((1*S*)-1-(((1*R**)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-1-carbonil)amino)etil) benzoato de metilo		339 (M + H)+, 677 (2M + H)+, 699 (2M + Na)+	

(continuación)

a) utilizar CH_3OH (20 ml/mmol de sustrato) como un cosolvente. b) agitar durante tres días a temperatura ambiente en lugar de una hora. c) agitar durante tres horas a temperatura ambiente, luego agregar una segunda porción de HCl en 1,4-dioxano (igual al primero), y agitar durante dos más horas a temperatura ambiente, en lugar de simplemente agitar durante una hora a temperatura ambiente. d) Utilizar CH_2Cl_2 (1 ml/mmol de sustrato) como un cosolvente.

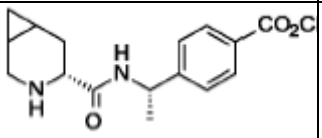
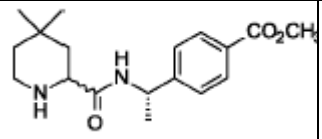
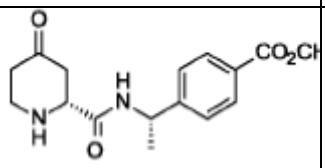
Preparación 49

Síntesis de 4-((1S)-1-(((5R)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo.

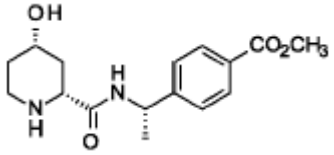
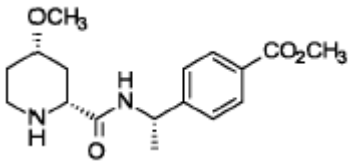


Disolver 4-((1S)-1-(((5R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (60 mg, 0,14 mmol) en CH_2Cl_2 (2,0 ml) y agregar ácido trifluoroacético (1,0 ml, 13,23 mmol). Agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 90 minutos, luego agregar agua (7,0 ml) y una solución acuosa de carbonato de sodio al 10 % (20 ml). Extraer la mezcla con EtOAc (3 x 50 ml), y lavar las capas orgánicas combinadas con una solución acuosa saturada de NaCl (5 ml). Secar la fase orgánica sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar una mezcla que contiene ca. 84 % del compuesto del título en masa (53 mg, 97 % de rendimiento corregido). Espectro de masa (m/z): 317 $(M + H)^+$, 633 (2M + H)+, 655 $(2M + Na)^+$.

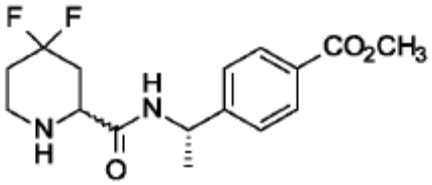
Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 49, utilizando los carbamatos de tert-butilo apropiados en lugar de 4-((1S)-1-(((5R)-6-tert-butoxicarbonil-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino) etil)benzoato de metilo:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)
50	4-((1*S*)-1-(((1*R**,4*R*,6*R**)-3-azabiciclo[4.1.0]heptano-4-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (2:1 mezcla de diastereómeros)		303 $(M + H)^+$, 605 (2M + H)+, 627 $(2M + Na)^+$
51	4-((1*S*)-1-(((2*R**)-4,4-dimetilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		319 $(M + H)^+$, 637 (2M + H)+
52	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-4-oxopiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		305 $(M + H)^+$

(continuación)

No.	Nombre químico	Estructura	MS (m/z)
53	4-((1*S*)-1-(((2*R*,4*S*)-4-hidroxipiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		307 (M + H)$^+$, 613 (2M + H)+, 635 (2M + Na)$^+$
54	4-((1*S*)-1-(((2*R*,4*S*)-4-metoxipiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		321 (M + H)$^+$, 343 (M + Na)$^+$, 641 (2M + H)+, 663 (2M + Na)$^+$

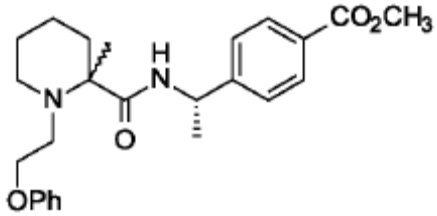
Preparación 55 Síntesis de 4-((1S)-1-(((2R*)- 4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo.



Disolver 4-((1S)-1-(((2R*)-1-benciloxicarbonil-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (540 mg, 1,17 mmol) en CH_3OH (4,7 ml) y agregar 10 % de paladio sobre carbono (125 mg, 0,12 mmol). Agitar a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno durante tres días. Filtrar a través de un tapón de tierra diatomácea, enjuagar con CH_3OH (10 ml). Concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (280 mg, 73 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 327 (M + H)$^+$, 653 (2M + H)+, 675 (2M + Na)$^+$.

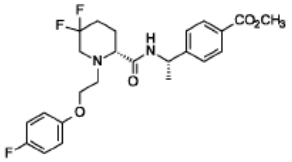
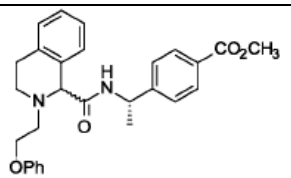
Preparación 56

Síntesis de 4-((1S)-1-(((2R*)-1-(2-fenoxietil)-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo.



Agitar una mezcla de clorhidrato de 4-((1S)-1-(((2R*)-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (130 mg, 0,38 mmol) y 2-fenoxiacetaldehído (104 mg, 0,76 mmol) en 1,2-dicloroetano (1,9 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, luego agregar triacetoxiborohidruro de sodio (113 mg, 0,53 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante 3 h. Enfriar la mezcla a 0°C y agregar una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (25 ml). Extraer la mezcla con EtOAc (2 x 25 ml), y lavar las capas orgánicas combinadas con una solución acuosa saturada de NaCl (25 ml). Separar la capa orgánica y secar sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 100 % de EtOAc en hexanos, para suministrar 130 mg de material. Someter este material a cromatografía de fase inversa sobre gel de sílice C18, eluir con 0,1 % de ácido fórmico en un gradiente de agua/CH_3CN. Extraer las fracciones que contienen el compuesto del título con EtOAc (2 x 50 ml)), y lavar las capas orgánicas combinadas con una solución acuosa saturada de NaCl (25 ml). Separar la capa orgánica y secar sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro (75 mg, 46 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 425 (M + H)$^+$.

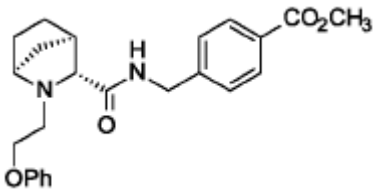
Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 56, utilizando las sales de clorhidrato de amina apropiadas en lugar de clorhidrato de 4-((1S)-1-(((2R*)-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo y/o los aldehídos apropiados en lugar de 2-fenoxiacetaldehído:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m*/*z*)	Nota
57	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)-5,5-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		465 (M +H)+, 487 (M +Na)+	a
58	4-((1*S*)-1-(((1*R**)-2-(2-fenoxietil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinol in-1-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		459 (M +H)+, 481 (M +Na)+	b

a) Purificar mediante cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 10 % a 90 % de EtOAc en hexanos. El compuesto del título es el segundo diastereómero para eluir. Sin cromatografía de fase inversa.

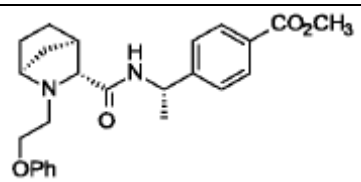
b) Purificar mediante cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 80 % de EtOAc en hexanos. Sin cromatografía de fase inversa.

Preparación 59 Síntesis de 4-(((1S,3R,4R)-2-(2-fenoxietil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)aminometil)benzoato de metilo.

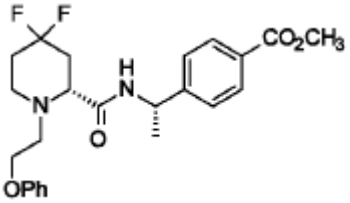
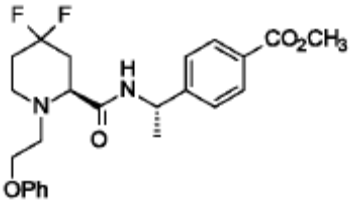


Disolver clorhidrato de 4-(((1S,3R,4R)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)aminometil)benzoato de metilo (300 mg, 0,92 mmol) y 2-fenoxiacetaldehído (140 mg, 1,03 mmol) en CH_3OH (5 ml) a temperatura ambiente, y agregar ácido acético (200 µl, 3,49 mmol) y cianoborohidruro de sodio (300 mg, 4,77 mmol). Agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Concentrar la mezcla bajo presión reducida, y agregar EtOAc (20 ml) y $NaHCO_3$ acuoso saturado (20 ml). Separar las capas, y lavar la capa orgánica con una solución acuosa saturada de NaCl (20 ml). Concentrar la capa orgánica bajo presión reducida, luego someter el material crudo a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 100 % de EtOAc a 5 % (7,0 M NH_3 en CH_3OH) en EtOAc, para suministrar el compuesto del título como un aceite vítreo (240 mg, 64 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 409 $(M + H)^+$, 431 $(M + Na)^+$.

Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 59, utilizando las sales de clorhidrato de amina apropiadas en lugar de clorhidrato de 4-(((1S,3R,4R)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)aminometil)benzoato de metilo:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m*/*z*)	Nota
60	4-((1*S*)-1-(((1*S*,3*R*,4*R*)-2-(2-fenoxietil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		423 $(M + H)^+$	

(continuación)

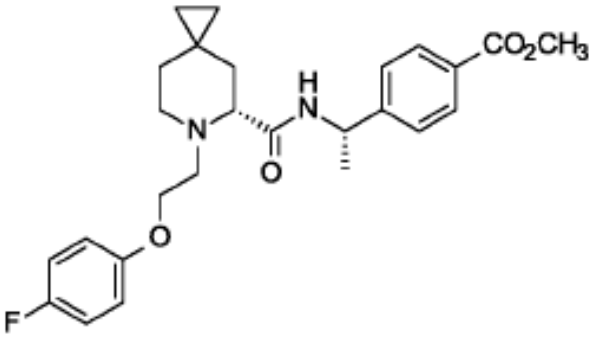
No.	Nombre químico	Estructura	MS (m/z)	Nota
61	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-fenoxietil)-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		447 (M +H)+, 469 (M +Na)+	a,b
62	4-((1*S*)-1-(((2*S*)-1-(2-fenoxietil)-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		447 (M +H)+, 469 (M +Na)+	a,b

a) Sin cromatografía flash de fase normal.

b) Las preparaciones 61 y 62 se emanan desde el mismo material impuro diasteoméricamente impuro. Separar los diastereómeros mediante cromatografía de fase inversa sobre gel de sílice C18, eluir con 0,1 % de ácido fórmico en un gradiente de CH_3CN/agua.

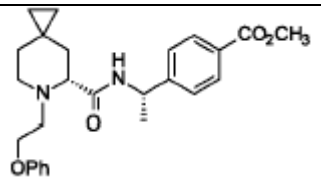
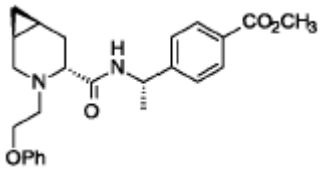
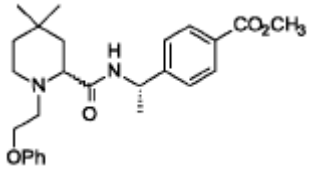
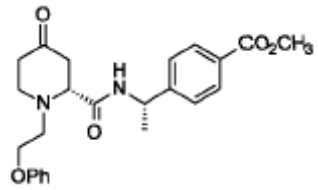
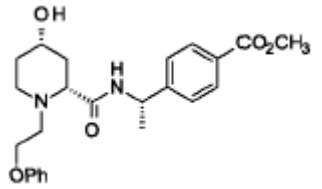
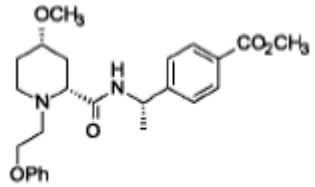
Preparación 63

Síntesis de 4-((1S)-1-(((5R)-6-(2-(4-fluorofenoxi)etil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo.



Disolver 4-((1S)-1-(((5R)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (44 mg, 0,14 mmol) en DMF (1,5 ml) a temperatura ambiente, luego agregar DIEA (73 µl, 0,42 mmol), 1-(2-bromoetoxi)-4-fluorobenceno (46 mg, 0,21 mmol), y NaI (10,5 mg, 0,07 mmol). Calentar la mezcla a 110°C durante 2 h con agitación. Diluir la mezcla con TBME (25 ml) y lavar con una solución acuosa al 5 % de LiCl (25 ml), seguido por una solución acuosa saturada de NaCl (25 ml). Secar la capa orgánica sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar bajo presión reducida. Someter el material crudo a cromatografía flash sobre gel de sílice, eluir con un gradiente de 0 % a 100 % de EtOAc en hexanos, para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (38 mg, 60 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 455 $(M + H)^+$.

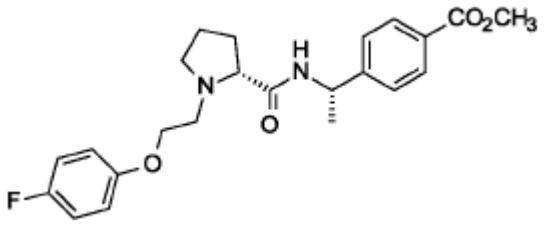
Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 63, utilizando las aminas apropiadas en lugar de 4-((1S)-1-(((5R)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo y/o los bromuros de alquilo apropiados en lugar de 1-(2-bromoetoxi)-4-fluorobenceno:

No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m*/*z*)	Nota
64	4-((1*S*)-1-(((5*R*)-6-(2-fenoxietil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		437 (M + H)$^+$	
65	4-((1*S*)-1-(((1*S*,4*R*,6*S*)-3-(2-fenoxietil)-3-azabiciclo[4.1.0]heptano-4-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		423 (M + H)$^+$	a
66	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-fenoxietil)-4,4-dimetilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		439 (M + H)$^+$	
67	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-fenoxietil)-4-oxopiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		425 (M + H)$^+$, 447 (M + Na)$^+$	
68	4-((1*S*)-1-(((2*R*,4*S*)-1-(2-fenoxietil)-4-hidroxipiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		427 (M + H)$^+$, 449 (M + Na)$^+$	
69	4-((1*S*)-1-(((2*R*,4*S*)-1-(2-fenoxietil)-4-metoxipiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo		441 (M + H)$^+$	

a) Purificar mediante cromatografía de columna flash sobre gel de sílice, eluir con un 0 % a 70 % de gradiante de EtOAc/hexanos para obtener una mezcla de diastereómeros. Luego, purificar mediante cromatografía de columna flash sobre gel de sílice, eluir con 52 % de EtOAc en hexanos, para separar los diastereómeros. El compuesto del título es el primer diastereómero para eluir.

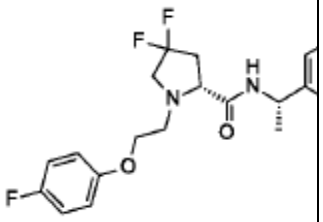
Preparación 70

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



Disolver clorhidrato de 4-((1S)-1-(((2R)-pirrolidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (1,00 g, 3,2 mmol) en DMF (8,0 ml) a temperatura ambiente, luego agregar K_2CO_3 (1,33 g, 9.6 mmol) y 1-(2-bromoetoxi)-4-fluorobenceno (715 mg, 3,2 mmol), luego calentar la mezcla a 100°C con agitación durante la noche. Diluir la mezcla con EtOAc (100 ml), y lavar con una solución acuosa saturada de NaCl (2 X 75 ml). Descartar la capa acuosas, y secar la capa orgánica sobre $MgSO_4$, filtrar, y concentrar bajo presión reducida a un volumen de ca. 10 ml. Agregar hexanos (100 ml, luego recolectar el precipitado resultante mediante filtración y enjuagar con hexanos (25 ml) y secar al aire para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (750 mg, 57 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 415 $(M + H)^+$.

Preparar el siguiente compuesto esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 70, utilizando clorhidrato de 4-((1S)-1-(((2R)- 4,4-difluoropirrolidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo en lugar de clorhidrato de 4-((1S)-1-(((2R)-pirrolidin-2- carbonil)amino)etil)benzoato de metilo:

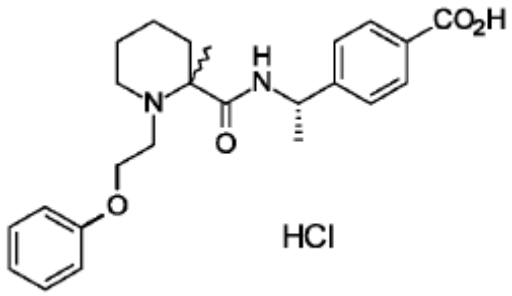
No.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
71	4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)4 ,4-difluoropirrolidin-2-carbonil)amino)etil) benzoato de metilo		451 (M + H)$^+$, 473 (M + Na)$^+$	a, b

a) después de calentar durante la noche, agregar un equivalente de NaI y un equivalente adicional de bromuro de alquilo.

b) Purificar mediante cromatografía de columna flash sobre gel de sílice, eluir con un 10 % a 100 % de gradiante de EtOAc/hexanos.

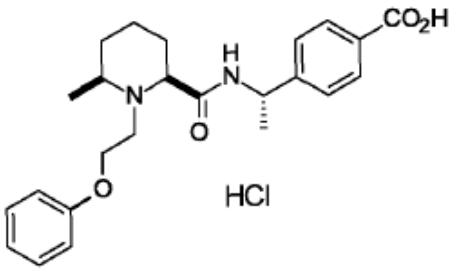
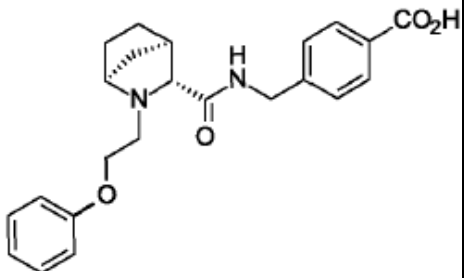
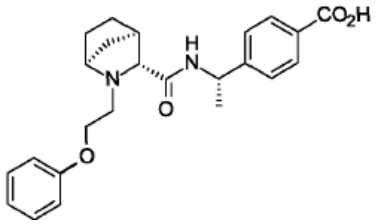
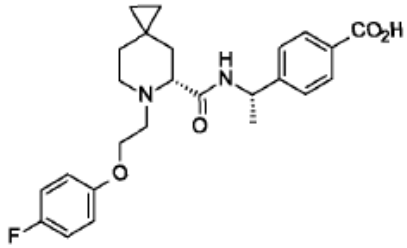
Ejemplo 1

Síntesis de clorhidrato de ácido 4-((1S)-1-(((2R*)-1-(2-fenoxietil)-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoico.



Disolver 4-((1S)-1-(((2R*)-1-(2-fenoxietil)-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (70 mg, 0,16 mmol) en una mezcla de THF (1,0 ml) y CH_3OH (1,0 ml). Agregar a 1,0 N solución acuosa de hidróxido de sodio (330 µl, 0,33 mmol), y agitar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Concentrar la mezcla bajo presión reducida para suministrar un sólido, luego agregar una solución 4,0 M de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (2,0 ml, 8,0 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante 10 min. Retirar los sólidos mediante filtración, enjuagar con THF (2 ml). Concentrar el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido blancuzco (52 mg, 71 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 411 $(M + H)^+$.

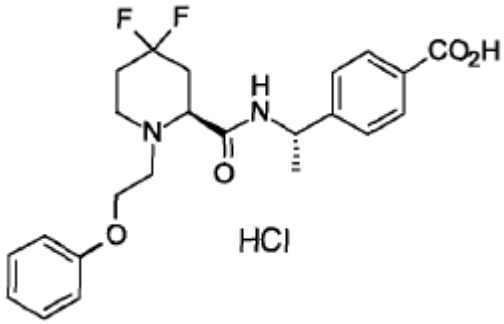
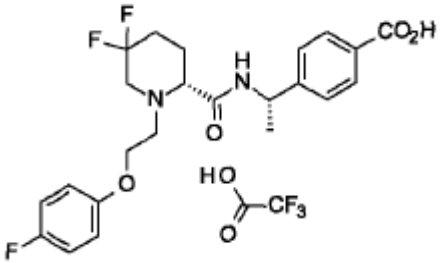
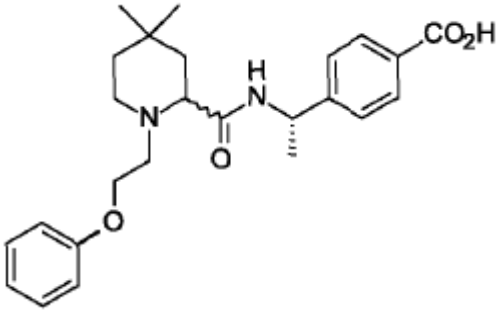
Preparar los siguientes compuestos esencialmente mediante el procedimiento de Ejemplo 1, utilizando los ésteres de metilo apropiados en lugar de 4-((1S)-1-(((2R*)-1-(2-fenoxietil)-2-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo:

Ej.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
2	Clorhidrato de ácido 4-((1*S*)-1-((2*R**,6*R**)-(1 -(2-fenoxietil)-6-metilpiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		411 (M+H)+	
3	Ácido 4-(((1*S*,3*R*,4*R*)-2-(2-fenoxietil)-2-azabiciclo[2.2.1]hept an-3-carbonil)aminometil)benzoico		395 (M+H)+	a,b
4	Ácido 4-((1*S*)-1-(((1*S*,3*R*,4R)-2-(2-fenoxietil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carbonil)amino)etil) benzoico		409 (M+H)+	a,b,c
5	Ácido 4-((1*S*)-1-(((5*R*)-6-(2-(4-fluorofenoxi)etil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil) benzoico		441 (M+H)+	d

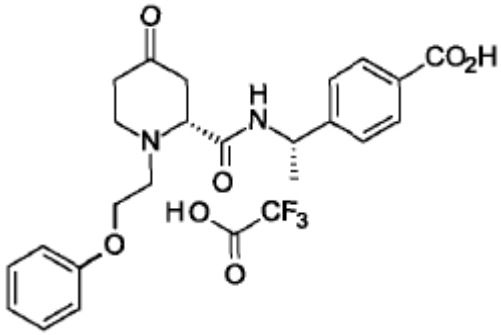
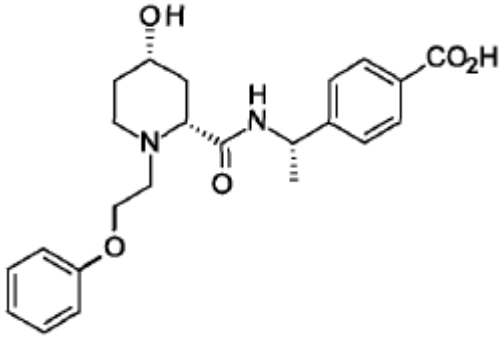
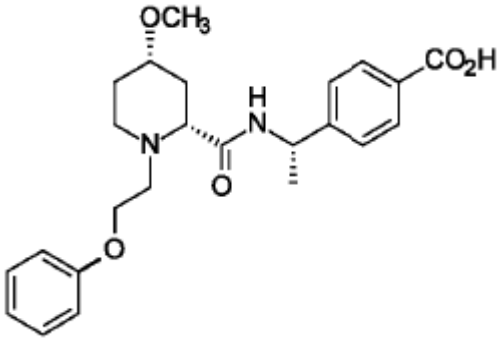
(continuación)

Ej.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
6	ácido 4-((1S)-1-(((5R)-6-(2-fenoxietil)-6-azaspiro[2.5]octano-5-carbonil)amino)etil) benzoico		423 (M+H)+	d
7	ácido 4-((1S)-1-(((1S,4R,6S)-3-(2-fenoxietil)-3-azabiciclo[4.1.0]hept ane-4-carbonil)amino)etil) benzoico		409 (M+H)+	e
8	Clorhidrato de ácido 4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-fenoxietil)-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		433 (M+H)+	

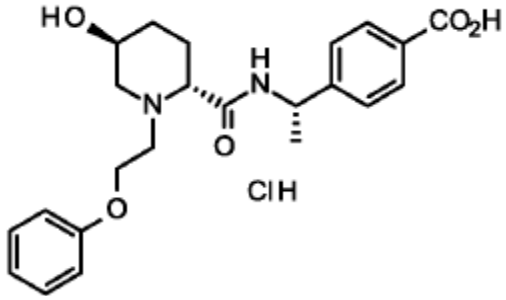
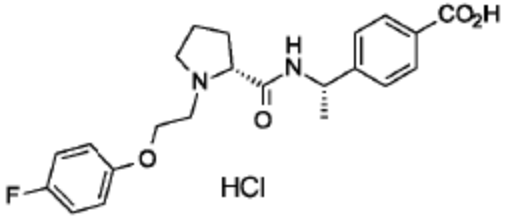
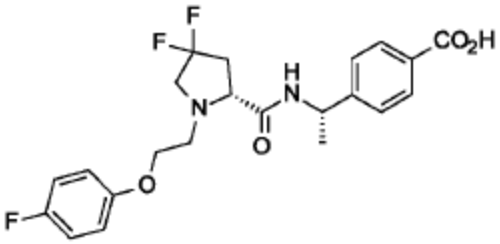
(continuación)

Ej.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
9	Clorhidrato de ácido 4-((1*S*)-1-(((2*S*)-1-(2-fenoxietil)-4,4-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		433 (M+H)+ , 455 (M+Na)+	
10	Trifluoroacetato de ácido 4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)-5,5-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		451 (M+H)+	f,g
11	ácido 4-((1S)-1-(((2R*)-1-(2-fenoxietil)-4,4-dimetilpiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		425 (M+H)+	c

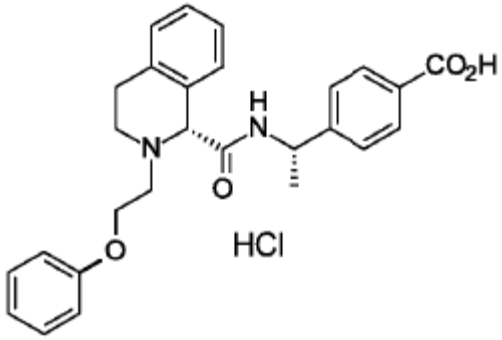
(continuación)

Ej.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
12	Trifluoroacetato de ácido 4-((1S)-1-(((2R)-1-(2-fenoxietil)-4-oxopiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		411 (M+H)+	d,g
13	ácido 4-((1S)-1-(((2R,4S)-1-(2-fenoxietil)-4-hidroxipiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		413 (M+H)+	d
14	ácido 4-((1S)-1-(((2R,4S)-1-(2-fenoxietil)-4-metoxipiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		427 (M+H)+	d

(continuación)

Ej.	Nombre químico	Estructura	MS (*m/z*)	Nota
15	Clorhidrato de ácido 4-((1*S*)-1-((2*R**,5*S**)-(1 -(2-fenoxietil)-5-hidroxipiperidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		413 (M+H)+ , 435 (M+Na)+	
16	Clorhidrato de ácido 4-((1*S*)-1-(((2*R*)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)pirrolidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		401 (M+H)+	h
17	ácido 4-((1S)-1-(((2R)-1-(2-(4-fluorofenoxi)etil)4 ,4-difluoropirrolidin-2-carbonil)amino)etil) benzoico		437 (M+H)+	i

(continuación)

Ej.	Nombre químico	Estructura	MS (*m*/*z*)	Nota
18	Clorhidrato de ácido 4-((1*S*)1-(((1*R*)-2-(2-fenoxietil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-1-carbonil)amino)etil) benzoico		445 (M+H)+	g

a) En lugar de acidificar con HCl/1,4-dioxano, neutralizar la mezcla de reacción con HCl acuoso 5,0 N, concentrar bajo presión reducida, triturar el material con EtOAc, y decantar la fase de solución, luego retirar el solvente para obtener el producto.

b) Agitar la mezcla de reacción a 70°C durante dos horas en lugar de a temperatura ambiente durante la noche.

c) Purificar mediante cromatografía de columna flash sobre gel de sílice, eluir con un 0 % a 10 % de gradiente de CH_3OH/EtOAc.

d) En lugar de acidificar con HCl/1,4-dioxano, neutralizar la mezcla de reacción a pH 7,0 con HCl acuoso 1,0 N, luego extraer con EtOAc, lavar con NaCl acuoso saturado, secar la fase orgánica sobre Na_2SO_4, filtrar, y concentrar bajo presión reducida para obtener el producto.

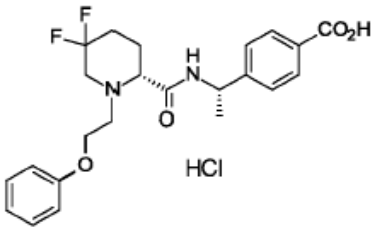
e) En lugar de acidificar con HCl/1,4-dioxano, neutralizar la mezcla de reacción a pH 7,0 con HCl acuoso 1,0 N, luego concentrar bajo presión reducida, triturar el material con 1:1 etanol/CH_3CN, someter a sonificación, y retirar los sólidos mediante filtración a través de un disco de filtro PTFE. Concentrar el filtrado bajo presión reducida para obtener el producto.

f) En lugar de acidificar con HCl/1,4-dioxano, concentrar la mezcla de reacción bajo presión reducida.

g) Someter el material crudo a cromatografía de fase inversa sobre gel de sílice C18, eluir con 0,1 % de TFA en un gradiente de CH_3CN/agua para obtener el producto como un diastereómero único.

h) En lugar de acidificar con HCl/1,4-dioxano, concentrar bajo presión reducida para eliminar los solventes orgánicos, acidificar la

Ejemplo 19 Síntesis de clorhidrato de ácido 4-((1S)-1-(((2R)-1-(2-fenoxietil)-5,5-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoico.



Agitar una mezcla de clorhidrato de 4-((1S)-1-(((2R*)-5,5-difluoropiperidin-2-carbonil)amino)etil)benzoato de metilo (200 mg, 0,55 mmol), β-bromofenetol (113 mg, 0,55 mmol), carbonato de potasio (229 mg, 1,65 mmol), CH_3CN (1.38 ml), y agua (por lo menos 9.9 mg, 0,55 mmol pero no más de 29.7 mg, 1,65 mmol) a 70°C durante dos días, luego a 82°C durante tres días. Concentrar la mezcla bajo presión reducida para suministrar un sólido. Agitar este sólido en etanol en ebullición, filtrar, y concentrar el filtrado bajo presión reducida. Someter el material crudo a cromatografía de fase inversa sobre gel de sílice C18, eluir con 0,1 % de ácido fórmico en un gradiente de CH_3CN/agua, para suministrar 161 mg de una mezcla de diastereómeros del compuesto del título. Someter 125 mg de esta mezcla a cromatografía de fluido supercrítico preparatorio sobre una columna Chiralcel OJ-H 5 µM, eluir con 0,2 % de isopropilamina en a 3:1 mezcla de CO_2 supercrítico a CH_3OH. Aislar el segundo isómero para eluir, y concentrar bajo presión reducida. Tratar el material con una solución 4,0 M de HCl en 1,4-dioxano (5 ml) y agitar durante 10 minutos. Concentrar bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (54 mg, 27 % de rendimiento). Espectro de masa (m/z): 433 $(M + H)^+$, 455 $(M + Na)^+$.

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

Las membranas de hEP1 y hEP4 se preparan a partir de células HEK293 recombinantes que expresan establemente receptores de EP1 humano (número de acceso de Genbank AY275470) o EP4 (número de acceso de Genbank AY429109). Las membranas de hEP2 y hEP3 se preparan a partir de células HEK293 transfectadas transitoriamente con plásmidos de receptor EP2 (Número de acceso de Genbank AY275471) o EP3 (isoforma VI: Número de acceso de Genbank AY429108). Los gránulos celulares congelados se homogeneizan en regulador de homogeneización utilizando un homogeneizador de Teflón/vidrio. La proteína de membrana se divide en alícuotas y se congela rápidamente sobre hielo seco antes de almacenamiento a -80 ºC. El regulador de homogeneización contiene Tris-HCl 10 mM, pH 7,4, sacarosa 250 mM, EDTA 1 mM, indometacina 0,3 mM y Complete™ plus, con EDTA, obtenido de Roche Molecular Biochemicals (número de catálogo 1 697 498).

Los valores de Kd para unión de [3H]-PGE_2 a cada receptor se determinan mediante estudios de unión de saturación o competición homóloga. Los compuestos se prueban en un formato de 96 pocillos utilizando una serie de dilución de tres veces para generar una curva de 10 puntos. El compuesto diluido se incuba con 20 µg/pocillo de EP1, 10 µg/pocillo de EP2, 1 µg/pocillo de EP3 o 10 a 20 µg/pocillo de membrana EP4 durante 90 minutos a 25 ºC en presencia de $[^3H]$-PGE_2 0,3 a 0,5 nM (Perkin Elmer, 118 a 180 Ci/mmol). La reacción de unión se realiza en 200 µl de regulador MES (MES 10 mM pH 6,0 con KOH, de $MgCl_2$ 10 mM y EDTA 1 mM) utilizando placas de pocillo profundo de 96 pocillos de poliestireno de 0,5 ml. La unión no específica se calcula al comparar la unión en presencia y ausencia de PGE_2 2 µM. Las membranas se recolectan por filtración (cosechador TomTek), se lavan 4 veces con regulador frío (MES 10 mM pH 6,0 con KOH, $MgCl_2$ 10 mM), se secan en un horno a 60 ºC y la radioactividad se cuantifica como conteos por minuto (CPM) utilizando un detector TopCount. El porcentaje de unión específica se calcula como el porcentaje de la unión en ausencia de cualquier inhibidor, corregida para la unión en presencia de 2 uM de PGE_2. Los datos se analizan utilizando una ecuación logística no lineal de 4 parámetros (Ecuación de ABase 205) como se muestra: y= (A+((B-A)/(1+((C/x)^D)))) en el que, y = % de inhibición específica , A = parte inferior de la curva; B = parte superior de la curva; C = IC_{50} relativa = concentración que causa un 50 % de inhibición en función del rango de los datos de arriba a abajo; D = Hill, Pendiente = pendiente de la curva. Conversión de K_i a partir de valores IC_{50} ($Ki = IC_{50}/(1 + [L]/K_d)$ en la que [L] es la concentración del ligando). Los resultados se expresan como la media geométrica ± desviación estándar; n = número de determinaciones independientes. La desviación estándar se calcula mediante el procedimiento delta, que es SD_{logKi}x media geométrica x ln (10).

Los compuestos de los Ejemplos 1-19 de la presente invención se prueban esencialmente como se describió anteriormente y muestran un valor Ki para hEP4 inferior a aproximadamente 2 µM.

Tabla 1: Unión *in vitro* del Ejemplo 8 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 8	>12500 (n=1)	956 (n=1)	>14800 (n=1)	3.68±3.32 (n=6)

Los datos en la Tabla 1 demuestran que el compuesto del Ejemplo 8 se une a hEP4 más fuertemente que a hEP1, hEP2 y hEP3 indicando selectividad para el receptor hEP4.

Actividad de antagonistas funcionales de EP4 humano in vitro

Los ensayos se llevan a cabo en células recombinantes HEK293 que expresan establemente el receptor EP4 humano. Las estirpes celulares se mantienen cultivando en DMEM con alto contenido de glucosa e clorhidrato de piridoxina (Invitrogen) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (FBS), piruvato de sodio 1 mM, HEPES 10 mM, 500 µg/ml de geneticina y L-glutamina 2 mM. Los cultivos confluentes se cultivan a 37°C en una atmósfera que contiene 5 % de CO_2. Las células se recogen utilizando Tripsina-EDTA al 2,5 %, se suspenden en medio de congelación (FBS con DMSO al 6 %) a 10^7 células/ml y se almacenan alícuotas en nitrógeno líquido. Justo antes del ensayo, las células se descongelan en DMEM, se centrifugan y se resuspenden en regulador cAMP.

La inhibición de la producción de cAMP estimulada por PGE_2 por antagonistas de EP4 se mide utilizando HTRF; (Catálogo de Cisbio # 62AM4PEB). Se incuba una alícuota equivalente a 4000 células con 50 µl de regulador de ensayo de cAMP que contiene EC_{80} de PGE_2 ($PIGE_2$ 0,188 nM de Sigma, catálogo Nº P5640-10 mg) y antagonistas a temperatura ambiente durante 20 minutos. El regulador de ensayo cAMP contiene 500 ml de HBSS (solución salina equilibrada de Hank), BSA al 0,1 %, HEPES 20 mM y IBMX 200 µM (Sigma I5879). El ácido CJ-042794 (ácido 4-{(1S)-1-[({5-cloro-2-[(4-fluorofenil)oxi]fenil}carbonil)amino]etil}benzoico) sirve como control positivo (Véase Murase, A., et al., Life Sciences, 82: 226 - 232 (2008)). Para medir los niveles de cAMP, el conjugado de cAMP-d_2 y el conjugado anti-cAMP-criptato en el regulador de lisis se incuban con las células tratadas a temperatura ambiente durante 1 hora. La señal de HTRF se detecta utilizando un lector de placas EnVision® (Perkin-Elmer) para calcular la relación de fluorescencia a 665 nm a 620 nm. Los datos brutos se convierten en cantidad de AMPc (pmol/pocillo) utilizando una curva estándar de AMPc generada para cada experimento. Los datos se analizan utilizando una ecuación logística no lineal de 4 parámetros (Ecuación 205 de ABase) como se muestra: y =(A+((BA)/(1+((C/x)^D)))) en la que, y = % de inhibición específica , A = Parte inferior de la curva, B = Parte superior de la curva, C = IC_{50} relativa = concentración que causa 50 % de inhibición en función del rango de los datos de arriba a abajo, D = Hill, Pendiente, Pendiente = pendiente de la curva. Los resultados se expresan como la media geométrica ± desviación estándar 6; n = número de determinaciones independientes. La desviación estándar se calcula mediante el procedimiento delta, que es SD_{logKi} x media geométrica x ln(10).

Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describió anteriormente, el compuesto del Ejemplo 8 tiene una IC_{50} de 1,76±1,51 nM (n = 6) medida en EP4 humana. Esto demuestra que el compuesto del Ejemplo 8 es un antagonista de EP4 humana in vitro.

Actividad antagonista in vitro en sangre humana entera

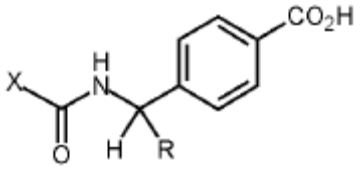
Se considera que los efectos inhibidores de PGE_2 sobre la producción de TNFα inducido por LPS a partir de macrófagos/monocitos están mediados por receptores EP4 (Véase Murase, A., et al., Life Sciences, 82:226-232 (2008)). La capacidad del compuesto del Ejemplo 8 para invertir el efecto inhibidor de PGE_2 sobre la producción de TNFα inducida por LPS en sangre completa humana es un indicador de actividad funcional.

Se recolecta sangre de donantes voluntarios normales en tubos vacutainer de heparina de sodio. Los donantes no han tomado NSAID ni celecoxib en 48 horas ni glucocorticoides dentro de dos semanas posteriores a la donación. Todos los tubos/donante se agrupan en tubos de centrífuga cónicos Falcon de 50 ml y se distribuyen en 98 µl/pocillo en placas de cultivo tisular de 96 pocillos (Falcon 3072). Los compuestos se diluyen en DMSO a 100 X final y se agrega 1 µl/pocillo por triplicado a la sangre para dar curvas de respuesta de concentración de 7 puntos. La sangre se pretrata con los compuestos a 37 ºC, en una atmósfera humidificada con 5 % de CO_2, durante 30 minutos, después de lo cual se agrega 1 µl/pocillo de una solución de 1 mg/ml de lipopolisacárido (LPS) (Sigma 0111: B4) en 0,2 mg/ml de albúmina de suero bovino (BSA)/PBS +/- PGE_2 1 mM (Cayman 14010) para dar una concentración de LPS final de PGE2 10 µg/ml de +/- 10 nM. Las placas se incuban durante 20 a 24 horas a 37 ºC en una atmósfera humidificada con CO_2 al 5 %. Las placas se centrifugan a 1800 x g, 10 minutos a 22 ºC, en una centrífuga Eppendorf 5810R. El plasma se elimina de la capa celular y se transfiere a placas de polipropileno de fondo en V. Los niveles de TNFα en 2 µl de plasma se cuantifican mediante un inmunoensayo enzimático disponible comercialmente (R & D Systems DY210), utilizando placas Immulon 4 HBX (Thermo 3855) y sustrato de 3,3',5,5'-tetrametilbifenil-4,4'-diamina (KPL 50-76-03). Las placas se leen en A_{450}-A_{650} en un lector de placas (Molecular Devices Versamax) utilizando el software SOFTmaxPRO (v. 4.3.1). Los IC_{50} se calculan utilizando regresión no lineal Graphpad Prism (v. 4), ajuste sigmoidal de curva de respuesta a la dosis. Los resultados se expresan como la media geométrica ± desviación estándar; se calcula el n = número de determinaciones independientes la desviación estándar mediante el procedimiento delta, que es SD_{logKi} x media geométrica x ln (10).

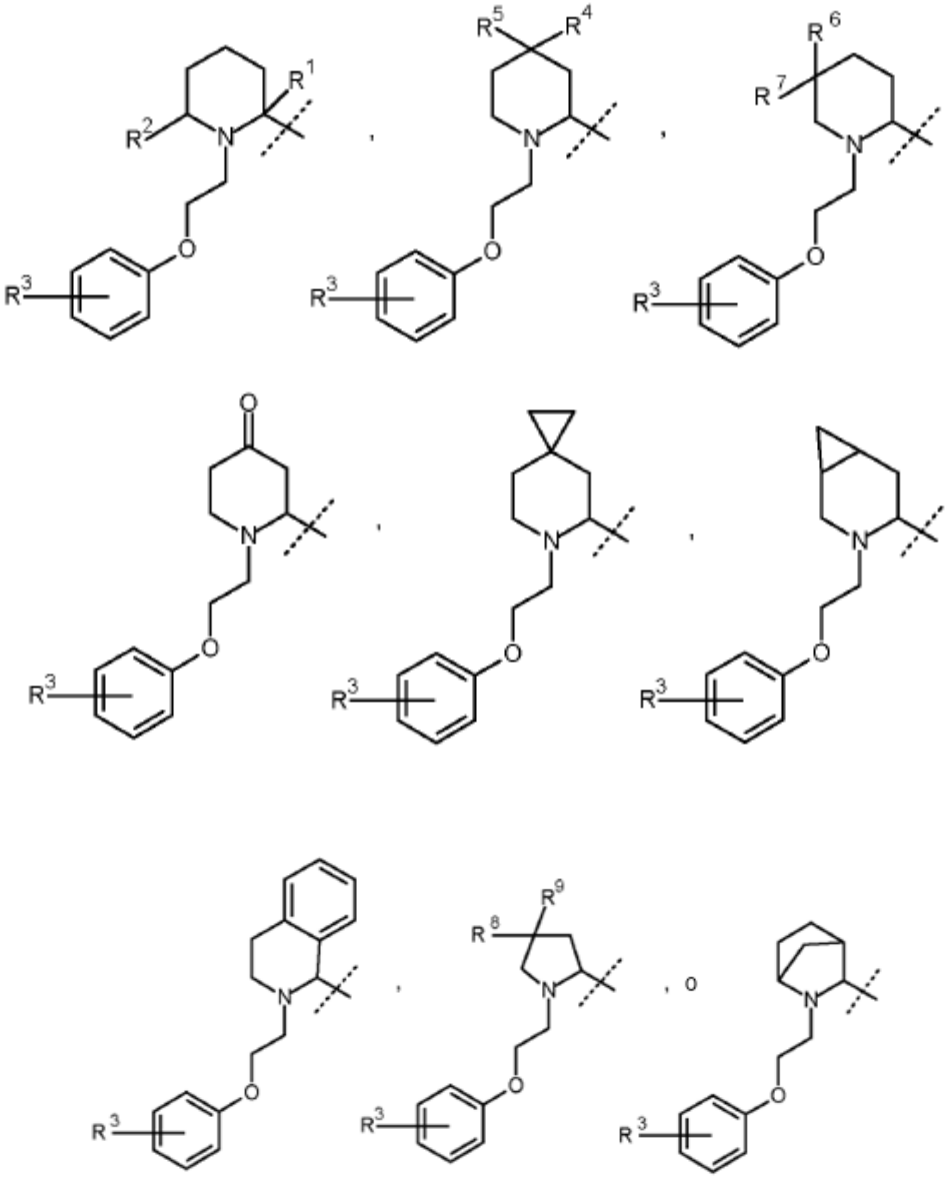
Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describió anteriormente, el compuesto del Ejemplo 8 tiene una IC_{50} de 0,0782 ± 0,061 uM (n = 6) medida en EP4 humana. Esto demuestra que el compuesto del Ejemplo 8 es un antagonista de EP4 en el ensayo de inducción de TNFα en sangre humana.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



en la que X es:



R es H, metilo, o etilo;

R^1 es metilo, cuando R^2 es H, y R^1 es H cuando R^2 es metilo;

R^3 es H o F;

R^4 es H, F, o metilo;

R^5 es OH, metilo, metoxi, o F;

R^6 es H cuando R^7 es OH, y R^6 es F cuando R^7 es F; y

R^8 y R^9 son cada uno independientemente H o F;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

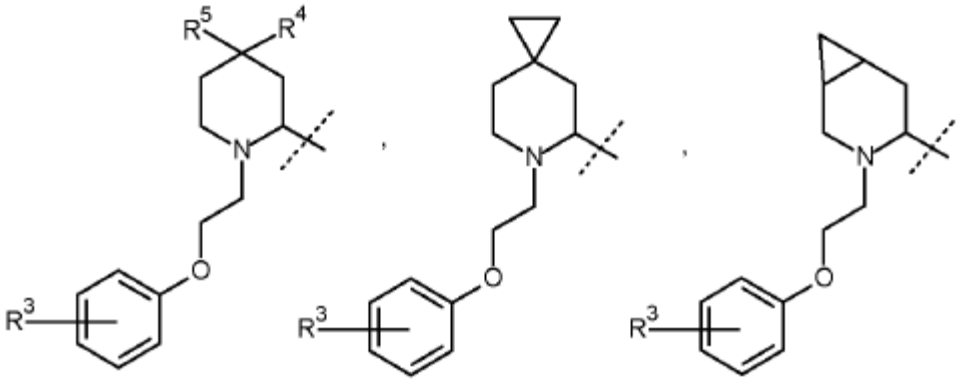
2. El compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R es metilo.

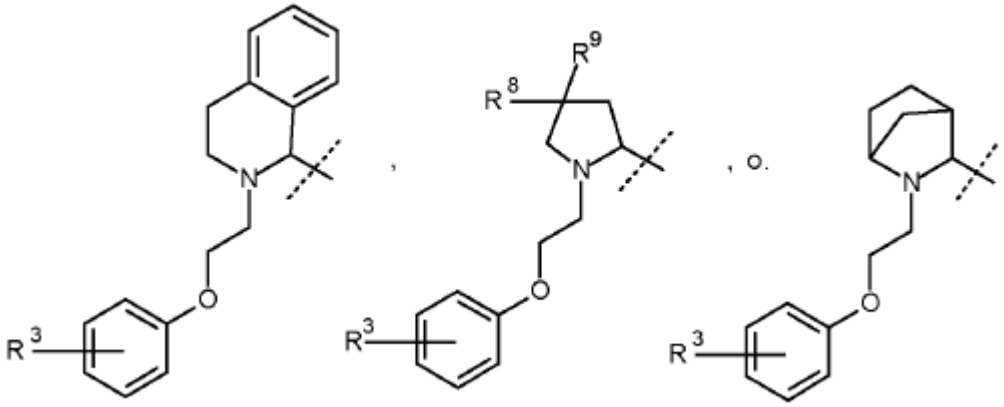
3. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en el que R^4 es F y R^5 es F.

4. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en el que R^4 es metilo y R^5 es metilo.

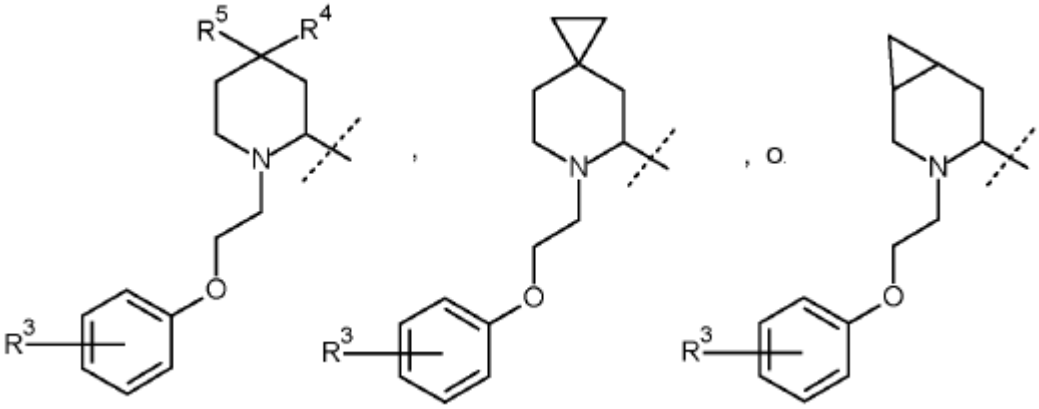
5. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que R^8 es F y R^9 es F.

6. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que X es:





7. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que X es:



8. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con reivindicaciones 1 a 7, para su uso en terapia.

9. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de osteoartritis.

10. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide.

11. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de dolor asociado con osteoartritis o artritis reumatoide.

12. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con reivindicaciones 1 a 7, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.