(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 771 825**

(51) Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)
C07F 9/40 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.01.2015** **PCT/US2015/010552**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **16.07.2015** **WO15105929**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.01.2015** **E 15702312 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019** **EP 3092223**

(54) Título: **(R)-3-((3s,4s)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona y sus profármacos para el tratamiento de trastornos psiquiátricos**

(30) Prioridad:

09.01.2014 US 201461925405 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.07.2020

(73) Titular/es:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US

(72) Inventor/es:

THOMPSON III, LORIN A. y
MACOR, JOHN E.

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 771 825 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

(R)-3-((3s,4s)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona y sus profármacos para el tratamiento de trastornos psiquiátricos

Antecedentes de la invención

La descripción generalmente se refiere a compuestos de fórmula I, incluidas sus sales, así como a composiciones y métodos de uso de los compuestos. Los compuestos son ligandos para el receptor NR2B NMDA, y pueden ser útiles para el tratamiento de diversos trastornos del sistema nervioso central.

Los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) son canales iónicos que se activan mediante la unión de glutamato, un neurotransmisor excitador en el sistema nervioso central. Se cree que desempeñan un papel clave en el desarrollo de una serie de enfermedades neurológicas, incluyendo depresión, dolor neuropático, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. Los receptores NMDA funcionales son estructuras tetraméricas compuestas principalmente por dos subunidades NR1 y dos NR2. La subunidad NR2 se subdivide en cuatro subtipos individuales: NR2A, NR2B, NR2C y NR2D, que se distribuyen diferencialmente en todo el cerebro. Los antagonistas o moduladores alostéricos de los receptores NMDA, en particular los canales que contienen la subunidad NR2B, han sido investigados como agentes terapéuticos para el tratamiento del trastorno depresivo mayor (G. Sanacora, 2008, Nature Rev. Drug Disc. 7: 426-437).

El receptor NR2B contiene sitios de unión de ligando adicionales además del glutamato. Los antagonistas no selectivos de NMDA, tal como ketamina, son bloqueadores de poros, que interfieren con el transporte de Ca++ a través del canal. La ketamina ha demostrado propiedades antidepresivas rápidas y duraderas en ensayos clínicos en humanos como un fármaco i.v. Adicionalmente, la eficacia se mantuvo con infusiones repetidas e intermitentes de ketamina (Zarate et al., 2006, Arch. Gen. Psychiatry 63: 856-864). Esta clase de fármacos, no obstante, tiene un valor terapéutico limitado debido a sus efectos secundarios en el SNC, incluyendo los efectos disociativos.

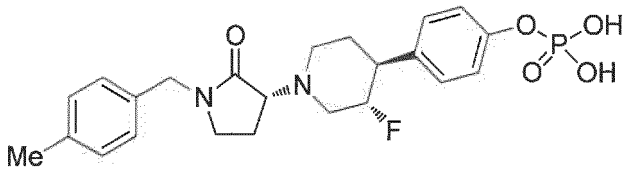
También se ha identificado un sitio de unión alostérico, no competitivo, en el dominio N-terminal de NR2B. Los agentes que se unen selectivamente en este sitio, tal como Traxoprodilo, mostraron una respuesta antidepresiva sostenida y un perfil mejorado de efectos secundarios en ensayos clínicos en seres humanos como un fármaco i.v. (Preskorn et al., 2008, J. Clin. Psychopharmacol., 28: 631-637, y F. S. Menniti, et al., 1998, CNS Drug Reviews, 4, 4, 307-322). Sin embargo, el desarrollo de fármacos de esta clase se ha visto obstaculizado por la baja biodisponibilidad, la mala farmacocinética y la falta de selectividad frente a otras dianas farmacológicas, incluyendo el canal de iones hERG. El bloqueo del canal de iones hERG puede conducir a arritmias cardíacas, incluyendo Torsades de pointes potencialmente mortal, por lo que la selectividad contra este canal es crítica. Por lo tanto, en el tratamiento del trastorno depresivo mayor, sigue habiendo una necesidad clínica insatisfecha para el desarrollo de moduladores alostéricos negativos selectivos de NR2B eficaces que tengan un perfil de tolerabilidad favorable.

Los antagonistas de los receptores NR2B se describen en los documentos WO 2009/006437, WO 03/035641 (derivados de carbamoilpirrolidona), WO 2005/035523 (compuestos de lactama condensados), WO 01/32615 (compuestos de piperidinilo 1,4-sustituidos), EP 1988077 (derivados heterocíclicos que contienen nitrógeno).

La invención proporciona ventajas técnicas, por ejemplo, los compuestos son novedosos y son ligandos para el receptor NR2B, y pueden ser útiles para el tratamiento de diversos trastornos del sistema nervioso central. Adicionalmente, los compuestos proporcionan ventajas para usos farmacéuticos, por ejemplo, con respecto a uno o más de sus mecanismos de acción, unión, eficacia de inhibición, selectividad de dianas, solubilidad, perfiles de seguridad o biodisponibilidad.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a dihidrogenofosfato de 4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo que tiene la fórmula



,

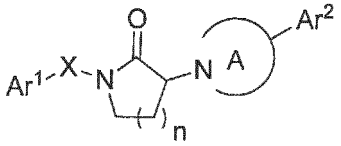
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención se refiere al compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para el tratamiento de depresión, enfermedad de Alzheimer, dolor neuropático o

enfermedad de Parkinson.

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Se describe adicionalmente en el presente documento un compuesto de fórmula I



I

donde:

Ar^1 es fenilo o indanilo y está sustituido con 0-3 sustituyentes seleccionados de ciano, halo, alquilo, haloalquilo y haloalcoxi;

Ar^2 es fenilo sustituido con un sustituyente 1 OR y también sustituido con 0-3 sustituyentes seleccionados de ciano, halo, alquilo, haloalquilo y haloalcoxi;

R es un resto de profármaco seleccionado del grupo que consiste en alquil ésteres, ésteres de aminoácidos, alcoxi ésteres, ácidos fosfónicos, alquil ésteres fosfónicos, ácido de alcoxifosfononato, alquil ésteres de alcoxifosfonato, carbamatos de alquilo, carbamatos de aminoácidos, fosforamidatos de alquilo, fosforamidatos de arilo, y sulfamatos;

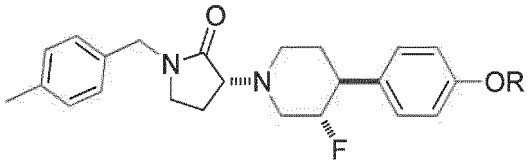
X es un enlace o alquileno C_1-C_3;

n es 1 o 2; y

el anillo A es azetidinilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, homopiperidinilo, u homopiperazinilo, y está sustituido con 0-4 sustituyentes seleccionados de halo, alquilo, hidroxi o alcoxi;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe aún adicionalmente un compuesto de la fórmula



donde R es un resto de profármaco seleccionado del grupo que consiste en alquil ésteres, ésteres de aminoácidos, alcoxi ésteres, ácidos fosfónicos, alquil ésteres fosfónicos, ácido de alcoxifosfononato, alquil ésteres de alcoxifosfonato, carbamatos de alquilo, carbamatos de aminoácidos, fosforamidatos de alquilo, fosforamidatos de arilo, y sulfamatos; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

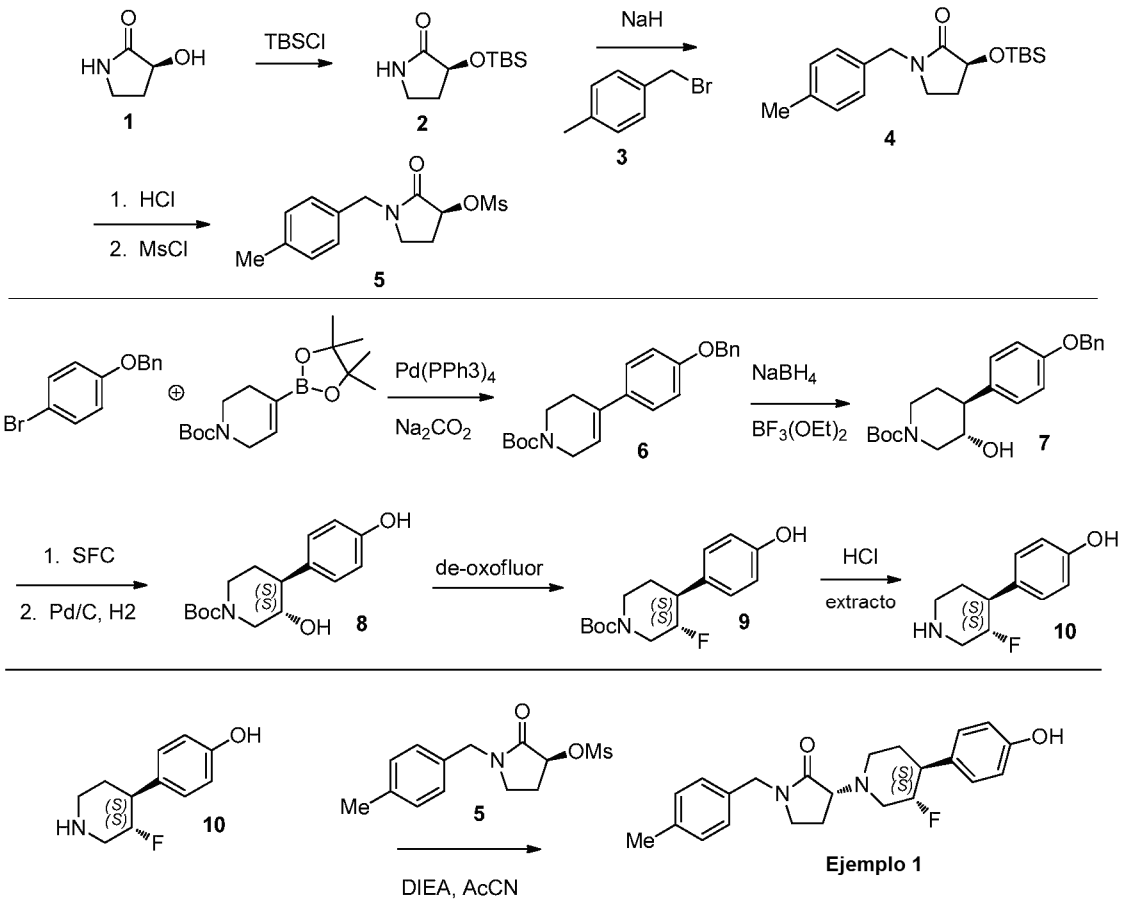
Métodos de síntesis

Los compuestos de Fórmula I se pueden preparar mediante métodos conocidos en la técnica, incluyendo los descritos a continuación y que incluyen variaciones dentro de la experiencia de la técnica. Algunos reactivos e intermedios son conocidos en la técnica. Se pueden preparar otros reactivos e intermedios mediante métodos conocidos en la técnica usando materiales fácilmente disponibles. Las variables (por ejemplo, los sustituyentes "R" numerados) usados para describir la síntesis de los compuestos están destinados solo a ilustrar cómo fabricar los compuestos y no deben confundirse con las variables usadas en las reivindicaciones o en otras secciones de la memoria descriptiva. Los siguientes métodos son para fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención. Los esquemas abarcan variaciones razonables conocidas en la técnica.

El Esquema 1 muestra una síntesis eficaz del ejemplo 1, (*R*)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona. La hidroxilactama 1 está disponible comercialmente en forma ópticamente pura. Puede protegerse y N-alquilarse para formar lactama 4. La desprotección y la activación del grupo hidroxilo con cloruro de metanosulfonilo conducen a la lactama 5. Por separado, el compuesto 6 puede prepararse mediante la reacción de

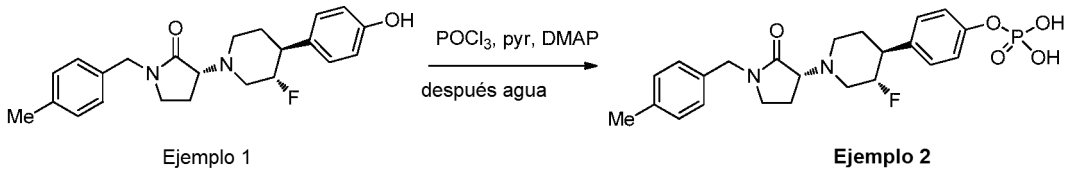
acoplamiento de Suzuki entre 4-benciloxibromobenceno comercial y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) -5,6-dihidropiridin-1(2*H*)-carboxilato de *terc*-butilo comercial. El tratamiento de 6 con borano preparado *in situ* seguido de oxidación da como resultado la formación del alcohol trans racémico 7. El alcohol 7 puede separarse en los enantiómeros individuales, y el fenol puede desenmascararse usando hidrogenación en condiciones estándar para preparar el fenol sustituido 8. La fluoración con reactivo de desoxofluor proporciona selectivamente el trans fluoruro de arilo 9, y la desprotección del grupo Boc con ácido clorhídrico proporciona la piperidina como la sal de clorhidrato. La extracción simple en condiciones básicas proporciona la piperidina 10 como base libre. La reacción cuidadosa de la piperidina 10 con la lactama 5 en condiciones ligeramente básicas proporciona (R)-3-((3S,4S)- 3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona, el compuesto del título del ejemplo 1.

Esquema 1. Síntesis de (R)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona.



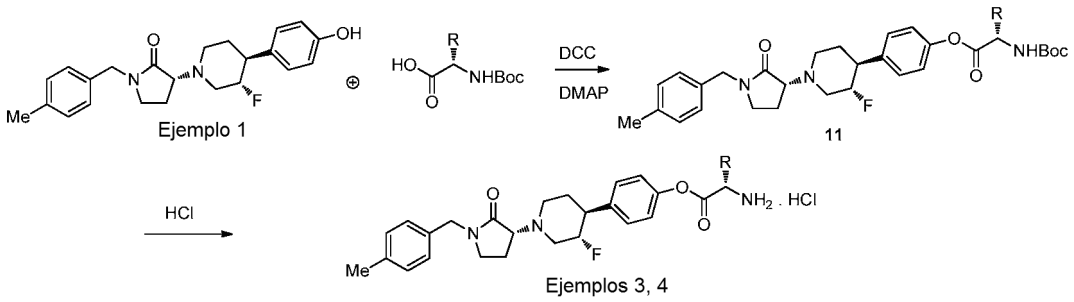
El compuesto del ejemplo 1 puede transformarse en diversos profármacos usando métodos conocidos en la técnica. Por lo tanto, de acuerdo con el esquema 2, el tratamiento del fenol con $POCl_3$, piridina y DMAP seguido de hidrólisis acuosa, proporciona el ejemplo 2, el éster de dihidrogenofosfato del ejemplo 1.

Esquema 2. Síntesis del ejemplo 2, el profármaco de ácido fosfónico del compuesto del ejemplo 1.



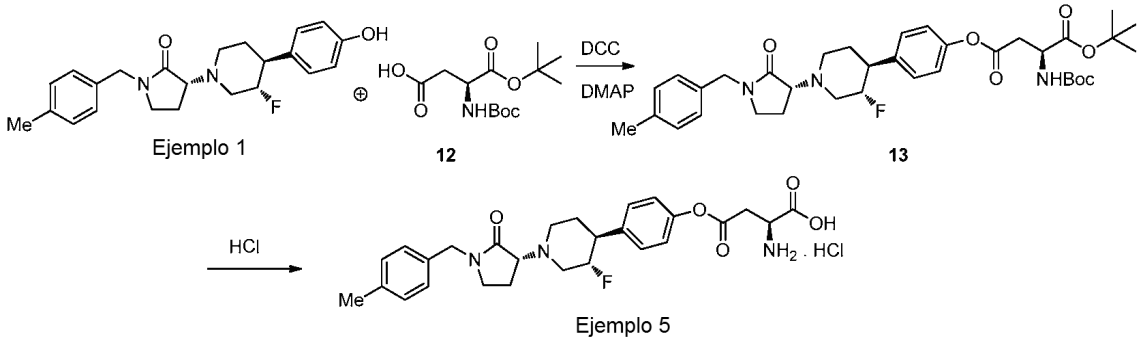
De manera similar, la reacción del compuesto del ejemplo 1 con un aminoácido protegido con Boc usando diversos métodos conocidos en la técnica, pero preferiblemente usando diciclohexilcarbodiimida y 4-dimetilaminopiridina, proporciona el éster 11. La escisión del grupo Boc en ácido, preferiblemente HCl, proporciona los ésteres que incluyen los compuestos de los ejemplos 3 y 4.

Esquema 3. Síntesis de profármacos de aminoácidos



De una manera similar, el éster *terc*-butílico de ácido aspártico protegido con Boc (12) se puede acoplar a través de la cadena lateral desprotegida al compuesto del ejemplo 1 para proporcionar el éster 13. La desprotección con HCl proporciona de nuevo el compuesto del ejemplo 5.

Esquema 4. Síntesis de profármaco de ácido aspártico con unión a través del ácido carboxílico de cadena lateral



Descripción de realizaciones específicas

Las abreviaturas usadas en los esquemas generalmente siguen las convenciones usadas en la técnica. Las abreviaturas químicas usadas en la memoria descriptiva y los ejemplos se definen del modo siguiente: "NaHMDS" para bis(trimetilsilil)amida de sodio; "DMF" para N,N-dimetilformamida; "MeOH" para metanol; "NBS" para N-bromosuccinimida; "Ar" para arilo; "TFA" para ácido trifluoroacético; "LAH" para hidruro de litio y aluminio; "BOC" para t-butoxicarbonilo, "DMSO" para dimetilsulfóxido; "h" para horas; "EtOAc" para acetato de etilo; "THF" para tetrahidrofurano; "EDTA" para ácido etilendiaminotetraacético; "Et_2O" para éter dietílico; "DMAP" para 4-dimetilaminopiridina; "DCE" para 1,2-dicloroetano; "ACN" para acetonitrilo; "DME" para 1,2-dimetoxietano; "HOBt" para 1-hidroxibenzotriazol hidrato; "DIEA" para diisopropiletilamina, "Nf" para $CF_3(CF_2)_3SO_2$-; y "TMOF" para trimetilortoformiato.

Las abreviaturas, como se usan en el presente documento, se definen de la siguiente manera: "1 x" para una vez, "2 x" para dos veces, "3 x" para tres veces, "°C" para grados Celsius, "equiv." para equivalente o equivalentes, "g" para gramo o gramos, "mg" para miligramo o miligramos, "l" para litro o litros, "ml" para mililitro o mililitros, "µl" para microlitro o microlitros, "N" para normal, "M" para molar, "mmol" para milimol o milimoles, "min" para minuto o minutos, "h" para hora u horas, "ta" para temperatura ambiente, "TR" para tiempo de retención, "atm" para atmósfera, "kpa, (psi)" para kilopascal (libras por pulgada cuadrada), "conc." para concentrado, "sat." para saturado, "PM" para peso molecular, "p.f." para punto de fusión, "e.e." para exceso enantiomérico, "EM" o "Espec. Masas" para espectrometría de masas, "IEN" para espectroscopía de masas con ionización por electronebulización, "HR" para alta resolución, "HRMS" para espectrometría de masas de alta resolución, "CLEM" para cromatografía líquida - espectrometría de masas, "HPLC" para cromatografía líquida de alta presión, "HPLC FI" para HPLC de fase inversa, "DCM" para diclorometano, "TLC" o "tlc" para cromatografía en capa fina, "SFC" = cromatografía de fluidos supercríticos, "RMN" para espectroscopia de resonancia magnética nuclear, "^{1}H" para protón, "δ" para delta, "s" para singlete, "d" para doblete, "t" para triplete, "c" para cuadruplete, "m" para multiplete, "a" para ancho, "Hz" para hercio, y "R", "S", "E" y "Z" son denominaciones estereoquímicas familiares para un experto en la técnica.

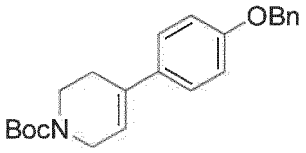
Los datos de LC/MS se obtuvieron utilizando las siguientes condiciones:

Condiciones A: Ascentis C18 50 X 2,1 mm, columna de 2,7 µm que usa un gradiente de caudal de 1 ml/min del 0-100 % de B durante 1,7 minutos seguido de 1,3 minutos al 100 % de B. Disolvente A: NH4COOH 10 mM en agua: acetonitrilo (98:2); disolvente B = NH4COOH 10 mM en agua:acetonitrilo (2:98).

Condiciones B: Phenomenex C18 2,0 X 50 mm, columna de 5 µm que usa un gradiente de caudal de 0,8 ml/min del 0-100 % de B durante 4 minutos. Disolvente A = MeOH al 10 %/agua al 90 %/TFA al 0,1 %, Disolvente B = MeOH al 90 %/agua al 10 %/TFA al 0,1 %.

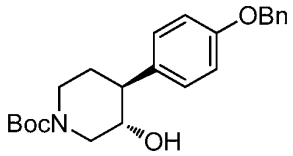
Síntesis de los productos intermedios

Intermedio A. 4-(4-(benciloxi)fenil)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de *terc*-butilo



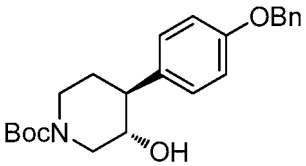
Una solución de 1-(benciloxi)-4-bromobenceno comercial (104 g, 395 mmol) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5,6-dihidropiridin-1(2*H*)-carboxilato de *terc*-butilo comercial (147 g, 474 mmol) en 1100 ml de acetonitrilo se purgó con nitrógeno durante 2 min. Se añadió agua (1100 ml), seguido de carbonato de sodio (126 g, 1186 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (27,4 g, 23,7 mmol). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 5 min, después se calentó a 90 °C y se agitó durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se dejó enfriar a ta y se diluyó con 1 l de acetato de etilo. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con dos porciones adicionales de 250 ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con 200 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se evaporaron al vacío en forma de un sólido de color blanquecino. El producto se purificó por cromatografía de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 6 % en éter de petróleo para proporcionar 129 g (88 %) del producto deseado. TR de LC/MS (condiciones A) = 2,732 min, (M-H)+ = 364,0. ^{1}H RMN (300 MHz, cloroformo-d) δ 7,49 - 7,30 (m, 5H), 7,27 (d, *J* = 10,7 Hz, 2H), 6,99 - 6,87 (m, 2H), 6,03 - 5,87 (m, 1H), 5,07 (s, 2H), 4,05 (d, *J* = 2,6 Hz, 2H), 3,62 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 2,49 (s a, 2H), 1,49 (s, 9H).

Intermedio B. 4-(4-(benciloxi)fenil)-3-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (+/-)-rel-(3S,4S)-*terc*-butilo



Se disolvió borohidruro de sodio (15,5 g, 410 mmol) en THF, y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió trifluoruro eterato de boro (52,3 ml, 424 mmol) a la solución, y la mezcla se dejó calentar a ta y se agitó durante 30 min. Después, se añadió una solución de 4-(4-(benciloxi)fenil)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de *terc*-butilo (50 g, 137 mmol, intermedio A) en 500 ml de THF y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a ta. Después, se añadió lentamente una porción de 100 ml de agua a la mezcla (Precaución: se observa efervescencia). La mezcla se diluyó con 100 ml de etanol, y se añadieron hidróxido de sodio (228 ml, solución al 10 % en agua, 0,684 mol) y peróxido de hidrógeno (20,5 ml, 0,684 mol). La mezcla de reacción se calentó a la temperatura de reflujo y se agitó durante 16 h. La mezcla se enfrió a 10 °C y se diluyó con 1 l de DCM. Después, el pH se ajustó a 7 con 1,5 l de HCl 1,5 N. Después, las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con una adición de dos porciones de 500 ml de DCM. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con 2 X 1 l de agua y 200 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, y se evaporaron al vacío para proporcionar un sólido de color blanquecino. El sólido se trituró con 500 ml de éter de pet. y se aisló por filtración para producir 46,5 gramos de producto (88 %, 99,0 % de pureza por HPLC). TR de LC/MS (condiciones A) = 2,372 min, $(M+H)^+$ = 382,0. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,47 - 7,42 (m, 2H), 7,42 - 7,36 (m, 2H), 7,36 - 7,28 (m, 1H), 7,14 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,92 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 5,07 (s, 2H), 4,74 (d, *J* = *5,5* Hz, 1H), 4,10 (s a, 1H), 3,94 (s a, 1H), 3,46 - 3,35 (m, 1H), 2,47 - 2,31 (m, 2H), 1,70 - 1,61 (m, 1H), 1,55 - 1,45 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

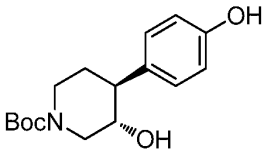
Intermedio C. 4-(4-(benciloxi)fenil)-3-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo



Se separó 4-(4-(benciloxi)fenil)-3-hidroxipiperidin-1-carboxilato de rel-(3S,4S)-*terc*-butilo racémico (112 g, intermedio B) en los enantiómeros individuales usando cromatografía preparativa de fluidos supercríticos en las siguientes condiciones: Se utilizó un instrumento Thar SFC-250 con una columna Lux-Cellulose-2 (250 X 21 mm), 5 µm

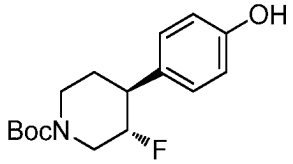
eluyendo con CO_2 al 60 % y el 40 % de una solución de dietilamina al 0,3 % en metanol a un caudal de 100,0 g/min. La muestra se inyectó a 74 mg/ml. Se realizó una SFC analítica en una columna Lux-Cellulose-2 (250 X 4,6 mm), 5 µm eluyendo con CO_2 al 55 % y el 45 % de una solución de dietilamina al 0,3 % en metanol a un caudal de 3,0 g/min. La recuperación fue de 50,0 g de pico 1 con un tiempo de retención de 2,49 minutos, que corresponde al 4-(4-(benciloxi)fenil)-3-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo deseado. Los datos analíticos coincidieron con los del racemato.

Intermedio D. 3 -hidroxi-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo



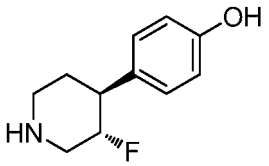
Una solución de 4-(4-(benciloxi)fenil)-3-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo (26 g, 67,8 mmol, intermedio C) en 260 ml de metanol se trató con 1,6 gramos de paladio al 10 % sobre carbono (13,6 mmol) en una botella a presión. Se introdujo hidrógeno a 50 psi, y la mezcla de reacción se agitó durante 16 h. La mezcla se filtró a través de celite y se concentró para dar un producto en bruto (18,9 g, 64,4 mmol) que era lo suficientemente puro para usarse más adelante sin purificación. TR de LC/MS (condiciones B) = 2,970 min, (M+H con pérdida de t-butilo)$^+$ = 238,0. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,10 (s a, 1H), 7,01 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,65 (s, 2H), 4,70 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 4,09 (s a, 1H), 3,93 (s a, 1H), 3,17 (s, 2H), 2,79 - 2,63 (m, 1H), 2,34 (s a, 1H), 1,68 - 1,57 (m, 1H), 1,44 (s a, 1H), 1,42 (s, 9H).

Intermedio E. 3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo



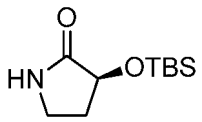
Una solución de 3-hidroxi-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo (15,5 g, 61,4 mmol, intermedio D) en 270 ml de acetonitrilo se enfrió a 0 °C. A la solución agitada se le añadió gota a gota una solución al 50 % de trifluoruro de bis(2-metoxietil)aminoazufre en tolueno (Deoxo-fluor, 58,4 ml, 159 mmol) a través de un embudo de adición durante 65 min. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0 °C y después se dejó llegar a ta y se agitó durante 2 h más. Después, se añadió una solución saturada de cloruro de amonio (150 ml), y la mezcla se extrajo con dos porciones de 150 ml de DCM. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron para proporcionar el producto en bruto. El producto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (1,5 kg de sílice) eluyendo con un gradiente de acetona al 0-15 % en hexanos para proporcionar 11,9 g (75 %) del 3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo deseado. TR de LC/MS (condiciones B) = 3,295 min, (M+H con pérdida de t-butilo y eliminación de flúor)$^+$ = 220,0. ^{1}H RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 7,15 (d, *J*=8,6 Hz, 2H), 6,83 (dt, *J* = 8,6, 2,0 Hz, 2H), 4,59 - 4,48 (m, 1H), 4,47 - 4,37 (m, 1H), 4,23 - 4,12 (m, 1H), 2,88 - 2,68 (m, 3H), 1,96 - 1,84 (m, 1H), 1,80 - 1,66 (m, 1H), 1,51 (s, 9H).

Intermedio F. 4-((3S,4S)-3-Fluoropiperidin-4-il)fenol



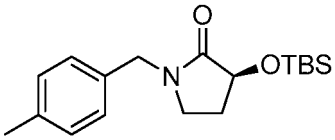
Una solución de 3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-carboxilato de (3S,4S)-*terc*-butilo (12,0 g, 40,6 mmol, intermedio E) en dioxano anhidro (80 ml) se trató con HCl (4 M en 1,4-dioxano, 40,6 ml, 162 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar a ta durante 6 h y después se evaporó al vacío para proporcionar la sal HCl del producto deseado. Sin aislamiento adicional, la sal HCl se suspendió en $CHCl_3$ y se añadieron 80 ml de una solución sat. de $NaHCO_3$. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con $CHCl_3$ (2 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para dar el compuesto del título (7,1 g, 36,4 mmol, 90 %). TR de LC/MS (condiciones B) = 1,008 min, LC/MS (M+H)$^+$ = 196,2.

Intermedio G. (S)-3-((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)pirrolidin-2-ona



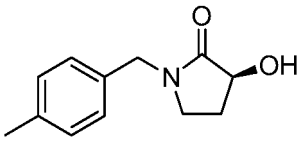
Una solución agitada de (S)-3-hidroxipirrolidin-2-ona comercial (5 g, 49,5 mmol) en DCM (198 ml) se trató con DMAP (0,199 g, 1,632 mmol), imidazol (6,73 g, 99 mmol), y TBDMS-Cl (8,94 g, 59,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h, y después se lavó con una solución sat. de $NaHCO_3$. La capa orgánica se concentró, y el producto de reacción en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 50 % en éster de petróleo. El producto deseado se aisló en forma de un sólido de color blanco (8,1 g, 76 %). LC/MS $(M+H)^+$ = 216,2. ^{1}H RMN (400 MHz, cloroformo- d) δ 6,40 (s a, 1H), 4,26 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 3,42 - 3,34 (m, 1H), 3,29 - 3,21 (m, 1H), 2,36 (dtd, *J*=12,7, 7,3, 3,3 Hz, 1H), 2,07 - 1,96 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,15 (d, *J*=7,0 Hz, 6H).

Intermedio H. (S)-3-((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona



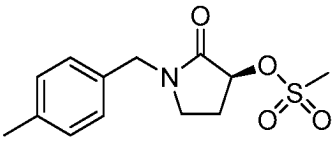
Se disolvió (S)-3-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)pirrolidin-2-ona (5 g, 23,22 mmol, intermedio G) en THF anhidro (46,4 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después, se añadió hidruro de sodio (1,393 g, 34,8 mmol) en una porción y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 5 min antes de la adición gota a gota de 1-(bromometil)-4-metilbenceno (5,37 g, 29,0 mmol) en THF anhidro (46,4 ml). La reacción se dejó agitar a 0 °C durante 5 min, después el baño de enfriamiento se retiró y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se interrumpió cuidadosamente con agua (100 ml) y después se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Después, las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml) y se secaron ($MgSO_4$). La evaporación del disolvente al vacío dio el producto en bruto (9,6 g, aceite) que después se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (330 g de sílice) eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 % al 20 % en hexanos para proporcionar 6,53 g (88 %) del producto deseado. LC/MS (Condiciones B), TR = 4,320 min, $(M+H)^+$ = 320,3. ^{1}H RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 7,15 (s, 4H), 4,42 (s, 2H), 4,37 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,32 - 3,18 (m, 1H), 3,10 (dt, J = 9,7, 7,5 Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,29 (dtd, J = 12,6, 7,6, 3,1 Hz, 1H), 1,97 - 1,84 (m, 1H), 0,95 (s, 9H), 0,20 (d, J = 10,3 Hz, 6H).

Intermedio I. (S)-3-Hidroxi-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona



Se añadió en una porción HCl (4 M en 1,4-dioxano, 25,5 ml, 102 mmol) a una solución de (S)-3-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (6,53 g, 20,44 mmol, intermedio H) en DCM anhidro (20,4 ml) a ta. Se apreció una ligera exotermia. La mezcla de reacción se dejó agitar a ta durante 2 h y después se evaporó al vacío. El residuo se recogió en DCM (100 ml) y se lavó con una solución sat. de bicarbonato de sodio (100 ml) y salmuera (50 ml), y después la solución se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró para dar un residuo. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (120 g de sílice) eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 40 % al 100 % en hexanos para proporcionar 3,73 g (89 %) del producto deseado. LC/MS (Condiciones B), TR = 2,338 min, $(M+H)^+$ = 206,2. ^{1}H RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 7,26 - 7,02 (m, 4H), 4,43 (d, *J* = 3,5 Hz, 2H), 4,41 - 4,37 (m, 1H), 3,66 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 3,34 - 3,05 (m, 2H), 2,41 (dddd, J = 12,8, 8,4, 6,6, 2,2 Hz, 1H), 2,34 (s, 3H), 1,93 (dc, J = 12,8, 8,8 Hz, 1H).

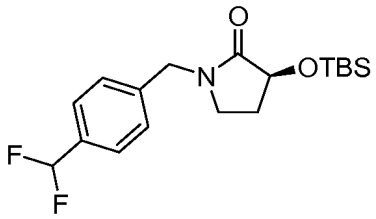
Intermedio J. Metanosulfonato de (S)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo



Se añadió trietilamina (0,509 ml, 3,65 mmol) a una solución enfriada de (S)-3-hidroxi-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (0,5 g, 2,436 mmol, intermedio I) en DCM anhidro (12,18 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después, se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (0,198 ml, 2,56 mmol) y la reacción se dejó agitar a 0 °C durante 15 min antes de interrumpirse con una solución sat. de bicarbonato de sodio (10 ml). La mezcla se dejó calentar a ta y

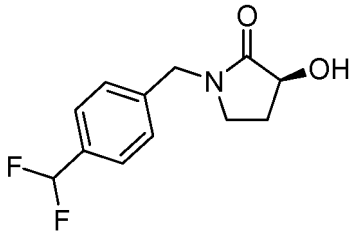
la capa acuosa se separó y se extrajo con DCM (2 x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$ y se evaporaron al vacío para dar un sólido de color blanco (0,73 g) que después se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (40 g de sílice) eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 % al 50 % en hexanos para proporcionar 0,63 g (91 %) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco.

Intermedio K. (S)-3-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-1-(4-(difluorometil)bencil)pirrolidin-2-ona



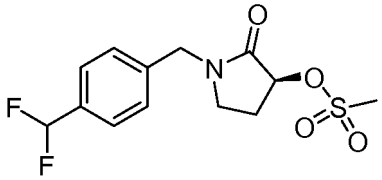
Se añadió una dispersión al 60 % de hidruro de sodio en aceite mineral (232 mg, 5,31 mmol) a una solución agitada de (S)- 3-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)pirrolidin-2-ona (762 mg, 3,54 mmol, intermedio G) en THF (7 ml) a 0 °C. Después de 15 min, se añadió una solución de 1-(bromometil)-4-(difluorometil)benceno (980 mg, 4,43 mmol) en THF (7 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. La reacción se interrumpió cuidadosamente con varios gramos de gránulos de hielo. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. La mezcla de reacción en bruto se purificó usando cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc al 0-30 %/hexanos) para proporcionar el producto deseado (440 mg, 35 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco: LCMS (M+H)+ 356,3; ^{1}H RMN (500 MHz, cloroformo-d) δ 7,49 (d, J=8,1 Hz, 2H), 7,35 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 6,65 (t a, *J = 1,0* Hz, 1H), 4,56 - 4,44 (m, 2H), 4,38 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 3,27 (ddd, J = 9,7, 8,7, 3,4 Hz, 1H), 3,13 (dt, J = 9,7, 7,4 Hz, 1H), 2,36 - 2,27 (m, 1H), 1,98 - 1,90 (m, 1H), 0,96 (s a, 9H), 0,22 - 0,20 (m, 3H), 0,20 - 0,18 (m, 3H).

Intermedio L. (S)-1-(4-(Difluorometil)bencil)-3 -hidroxipirrolidin-2-ona



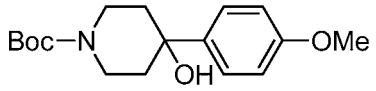
Una solución de HCl 4 M en dioxano (0,62 ml, 2,5 mmol) se añadió a una solución agitada de (S)-3-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-1-(4-(difluorometil)bencil)pirrolidin-2-ona (440 mg, 1,24 mmol, intermedio K) en diclorometano (1,24 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el producto deseado (368 mg, rendimiento cuantitativo): LC-MS (M+H)+ 242,1.

Intermedio M. Metanosulfonato de (*S*)-1-(4-(Difluorometil)bencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo



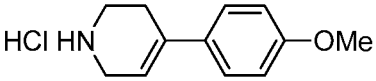
Se añadió trietilamina (0,319 ml, 2,29 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,131 ml, 1,68 mmol) a una solución agitada de (S)-1-(4-(difluorometil)bencil)-3-hidroxipirrolidin-2-ona (368 mg, 1,53 mmol, intermedio L) en diclorometano (7,63 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h. La mezcla resultante se diluyó con agua y la mezcla acuosa se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución al 10% de bicarbonato de sodio, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó usando cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc al 0-100 %). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar el producto deseado (322 mg, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco: LC-MS (M+H)+ 320,1; ^{1}H RMN (500 MHz, cloroformo-d) δ 7,53 (d, J=7,9 Hz, 2H), 7,38 - 7,33 (m, 2H), 6,67 (t a, J = 1,0 Hz, 1H), 5,27 (dd, J = 8,2, 7,5 Hz, 1H), 4,60 - 4,49 (m, 2H), 3,41 - 3,35 (m, 1H), 3,33 (s, 3H), 3,27 (dt, J = 9,9, 7,3 Hz, 1H), 2,64 - 2,55 (m, 1H), 2,27 (ddt, J = 13,9, 8,9, 7,1 Hz, 1H).

Intermedio N. 4-hidroxi-4-(4-metoxifenil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo



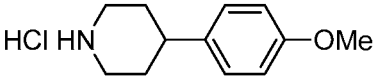
Una mezcla de 4-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo comercial (2,0 g, 10,0 mmol) y éter dietílico (30 ml) se enfrió a 0 °C. A esta mezcla se le añadió gota a gota una solución de bromuro de (4-metoxifenil)magnesio (0,5 M en éter dietílico, 30 ml, 15 mmol). Después de que se completase la adición, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Después, se enfrió lentamente con 150 ml de agua enfriada con hielo y después la mezcla resultante se extrajo con 3x150 ml de DCM. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (30:70 de acetato de etilo:hexano) para proporcionar el producto deseado (3,0 g, 100 % de rendimiento): LC-MS(ES-API): m/z 305,5 (M-H)+; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,37 (c, *J=1,0* Hz, 2H), 6,86 (c, J = 1,0 Hz, 2H), 4,94 (s, 1H), 3,82 (d, J = 11,5 Hz, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,13 (s a, 2H), 1,75 (td, J = 12,9, 4,8 Hz, 2H), 1,56 (d, J = 12,3 Hz, 2H), 1,41 (s, 9H).

Intermedio O. Clorhidrato de 4-(4-metoxifenil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina



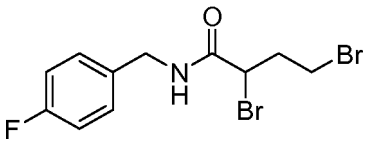
Una mezcla de 4-hidroxi-4-(4-metoxifenil) piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (700 mg, 2,27 mmol, intermedio N) y HCl en dioxano (4,0 ml, 16 mmol) se agitó a ta durante 3 h. La masa en bruto se concentró al vacío y el residuo sólido se lavó con 3x10 ml de DCM para eliminar las impurezas no polares. La sal deseada se recogió como un sólido fino (480 mg, 93 %). LCMS (ES-API) m/z 190,2 (M+H)+; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,37 (d, J=9,0 Hz, 2H), 6,98 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 6,08 - 5,98 (m, 1H), 5,11 (s, 1H), 3,97 (s a, 1H), 3,52 (s, 1H), 3,32 (s, 3H), 2,47 - 2,37 (m, 1H).

Intermedio P. Clorhidrato de 4-(4-metoxifenil)piperidina



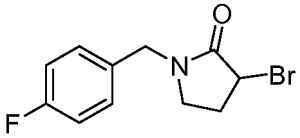
A una solución agitada de 4-(4-metoxifenil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina, HCl (3,00 g, 13,3 mmol, intermedio O) en metanol (20 ml) se le añadió paladio al 10 % sobre carbono (1,4 g) y la mezcla de reacción se agitó a 20 psi de hidrógeno durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite, que se lavó con acetato de etilo, y las fracciones orgánicas combinadas se concentraron para obtener un sólido de color blanco (2,0 g, 70 % de rendimiento): LCMS (ES-API), m/z 192,1 (M+H)+; ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 9,13 - 8,36 (m, 2H), 7,14 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,90 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,07 - 2,87 (m, 4H), 2,87 - 2,65 (m, 4H).

Intermedio Q. 2,4-Dibromo-N-(4-fluorobencil)butanamida



Se añadieron secuencialmente TEA (8,91 ml, 63,9 mmol) y cloruro de 2,4-dibromobutanoílo (5,07 ml, 38,4 mmol) a una solución de (4-fluorofenil)metanamina comercial (4,0 g, 32,0 mmol) en éter dietílico (15 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta y en agitación durante 24 h más. La mezcla de reacción se filtró. Los sólidos se lavaron con éter dietílico. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar una mezcla en bruto que contenía 2,4-dibromo-*N*-(4- fluorobencil)butanamida (8,0 g, 71 % de rendimiento): LCMS (ES-API), m/z 354, 356 (M+H)+.

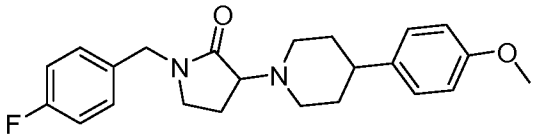
Intermedio R. 3 -Bromo-1 -(4-fluorobencil)pirrolidin-2-ona



Una dispersión al 60 % de NaH en aceite mineral (1,70 g, 42,5 mmol) se añadió a una solución agitada de 2,4-

dibromo-*N*-(4-fluorobencil)butanamida (10,0 g, 28,3 mmol, intermedio Q) en THF (25 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta y en agitación durante 2 h más. La mezcla de reacción se inactivó cuidadosamente con hielo y se diluyó con agua. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y después con solución de salmuera. La capa orgánica se cubrió con sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó usando cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc al 10%/hexanos) para proporcionar el producto deseado (5,90 g, 64 % de rendimiento): LCMS (ES-API), m/z 272,4, 274,3 $(M+H)^+$; ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,12 - 2,27 (m, 1 H) 2,56 - 2,68 (m, 1 H) 3,27 (dd, *J*=7,78, 3,26 Hz, 2 H) 4,29 - 4,38 (m, 1 H) 4,40 - 4,57 (m, 1 H) 4,73 (dd, *J*=7,03, 3,01 Hz, 1 H) 7,04 - 7,35 (m, 4 H).

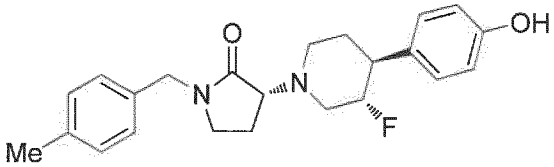
Intermedio S. 1 -(4-Fluorobencil)-3 -(4-(4-metoxifenil)piperidin-1 -il)pirrolidin-2-ona



Se añadió TEA (0,768 ml, 5,51 mmol) a una solución agitada de 3-bromo-1-(4-fluorobencil)pirrolidin-2-ona (0,3 g, 1,10 mmol, intermedio R) y clorhidrato de 4-(4-metoxifenil)piperidina (0,276 g, 1,213 mmol, intermedio P) en acetonitrilo (10 ml). La mezcla de reacción se selló y se calentó en un microondas químico a 100 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con EtOAc. La mezcla orgánica se lavó con agua y una solución de salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar una mezcla en bruto que contenía 1-(4-fluorobencil)-3-(4-(4-metoxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona (0,35 g, 83 % de rendimiento): LCMS (ES-API), m/z 383,2 $(M+H)^+$.

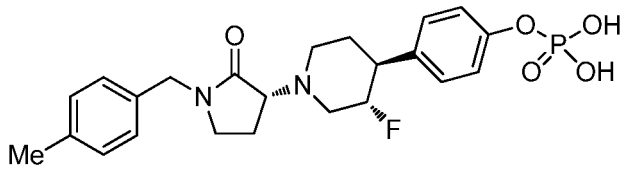
Los Ejemplos 1 a 5 describen (*R*)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona y profármacos de la misma, siendo el profármaco de dihidrogenofosfato del Ejemplo 2 el profármaco reivindicado. Los Ejemplos 6 a 9 describen compuestos de 3-(-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-bencilpirrolidin-2-ona adicionales y sus respectivos profármacos de dihidrogenofosfato.

Ejemplo de referencia 1. (*R*)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona



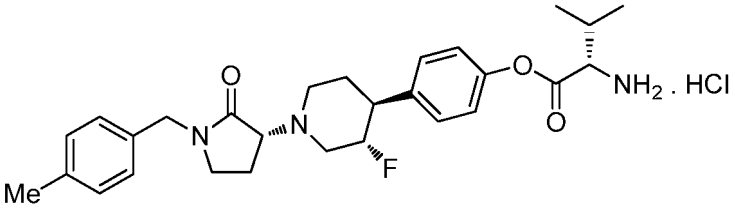
Una solución de 4-((3S,4S)-3-fluoropiperidin-4-il)fenol (7,10 g, 36,4 mmol, intermedio F) y DIEA (16 ml, 92 mmol) en 100 ml de acetonitrilo se calentó a 80 °C. Esta solución se trató gota a gota con una solución de metanosulfonato de (S)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (10,5 g, 37,0 mmol, intermedio J) en acetonitrilo (80 ml) durante un periodo de 4 horas. Después de que se completase la adición, la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se dejó enfriar a ta, y el volumen redujo por evaporación rotatoria a 80 ml. Después, se añadió una solución sat. de NH_4Cl (100 ml), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 100 ml) y las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para dar un producto en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (750 g de gel de sílice) eluyendo con un gradiente del 0 % al 20 % del disolvente B en el disolvente A, donde el Disolvente B = 20 % de metanol/DCM, y el disolvente A = DCM. Las fracciones que contenían el producto se combinaron. La evaporación de los disolventes dio 9,3 gramos del producto deseado con un 97 % de pureza por análisis LC/MS (condiciones B). El producto obtenido de este modo (8,5 g) se suspendió en acetona:hexano (1:5, 200 ml) y el producto sólido se aisló por filtración y se secó al aire. Un análisis cuidadoso por SFC mostró la presencia de una impureza del 2,1 % en el producto. Usando una columna Cell4 0,46 X 25 cm 5 µm y eluyendo con metanol al 45 % en CO_2 a 3 ml/min, el producto deseado eluyó a los 3,800 minutos, y la impureza no deseada eluyó a los 4,848 minutos. Después, el producto se purificó por cromatografía por SFC usando una columna Cell4 3 X 25 cm 5 µm a 150 ml/min inyectando 1,5 ml de una solución de 80 mg/ml. La concentración de las fracciones activas proporcionó 7,82 gramos (20,4 mmol, 56 %) de >99,7 % del ejemplo 1 puro en forma de un polvo de color blanco. LC/MS (Condiciones B), TR = 2,512 min, $(M+H)^+$ = 383,3. ^{19}F RMN δ -182,83. ^1H RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 7,20 - 7,08 (m, 6H), 6,98 - 6,78 (m, 2H), 5,68 (s, 1H), 4,77 - 4,54 (m, 1H), 4,53 - 4,34 (m, 2H), 3,68 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 3,41 - 3,29 (m, 1H), 3,28 - 3,09 (m, 2H), 2,82 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 2,74 - 2,54 (m, 2H), 2,47 (td, *J* = 9,9, 3,6 Hz, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,19 - 1,94 (m, 2H), 1,92 - 1,80 (m, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, cloroformo-d) δ 172,4, 154,9, 137,5, 133,3, 133,0, 129,5, 128,7, 128,3, 115,5, 92,6, 90,8, 65,0, 54,4, 54,2, 48,7, 48,0, 47,8, 46,8, 43,7, 31,7, 31,6,21,1, 19,6.

Ejemplo 2. Dihidrogenofosfato de 4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo.

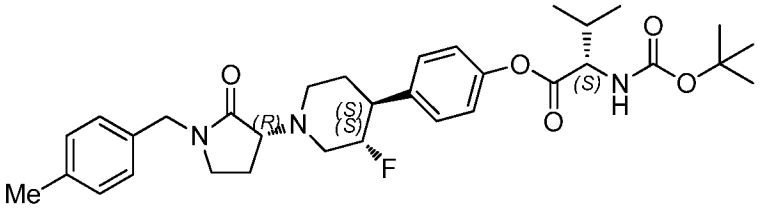


A una suspensión de (*R*)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (100 mg, 0,261 mmol, ejemplo 1) en 10 ml de diclorometano se le añadieron piridina (0,106 ml, 1,31 mmol) y DMAP (160 mg, 1,31 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a -20 °C. A la solución enfriada se le añadió gota a gota $POCl_3$ (0,122 ml, 1,31 mmol), y después la mezcla de reacción se dejó calentar a ta, y se agitó durante 1 h. Se añadió agua (10 ml) y la mezcla se agitó durante 1,5 h. Después, las capas se separaron y la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por HPLC en una columna Symmetry C8 (300 X 17 mm) 7 mM eluyendo con un gradiente del 20 % de B al 50 % de B durante 7 minutos a 15 ml/min, donde el disolvente A = acetato de amonio 10 mM en agua a pH 4,5 y el disolvente B = acetonitrilo. El TR del producto = 2,2 min. El producto deseado (5,8 mg, 4,7 %) se aisló de las fracciones apropiadas mediante liofilización en forma de un sólido de color blanco. LCMS (Condiciones A) TR = 1,720 min, $(M+H)^+$ = 463,2. ^{1}H RMN (400 MHz, metanol-d4) δ 7,29 - 7,16 (m, 8H), 4,74 (s a, 1H), 4,61 - 4,34 (m, 2H), 4,01 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 3,82 - 3,62 (m, 1H), 3,35 (m, 2H), 3,05 (s a, 2H), 2,79 (s a, 2H), 2,34 (s, 4H), 2,18 (s a, 1H), 2,02 - 1,87 (m, 1H), 1,83 (s a, 1H). ^{19}F RMN (376 MHz, metanol-d4) δ -185,143. ^{31}P RMN (162 MHz, metanol-d4) δ - 4,260.

Ejemplo de referencia 3. Clorhidrato de 2-amino-3-metilbutanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo.

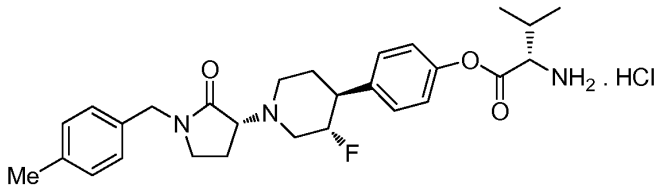


Etapa 3A. 2-((*terc*-Butoxicarbonil)amino)-3-metilbutanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo.



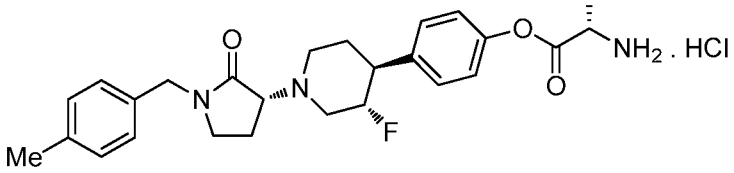
A una solución de (*R*)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (0,02 g, 0,052 mmol, ejemplo 1) en DCM (3 ml) se le añadió ácido (S)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-metilbutanoico (0,059 g, 0,272 mmol) seguido de DCC (0,032 g, 0,157 mmol) y DMAP (6,39 mg, 0,052 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Después, se añadió agua (10 ml), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 10 ml) y las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, y se concentraron para dar un producto en bruto. El producto en bruto se purificó por TLC preparativa eluyendo con acetato de etilo al 35 % en éter de petróleo para proporcionar el producto purificado 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-metilbutanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((R)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo (27 mg, 79 %). TR de LC/MS (Condiciones A) = 2,523 min, $(M+H)^+$ = 582,2. ^{1}H RMN (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,36 (d, *J*=8,5 Hz, 2H), 7,18 (s, 4H), 7,08 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 4,80 - 4,59 (m, J = 10,0, 10,0, 5,0 Hz, 1H), 4,51 (d, J = 15,0 Hz, 1H), 4,39 (d, J = 15,0 Hz, 1H), 4,23 (dd, J = 8,3, 6,3 Hz, 1H), 3,72 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 3,56 - 3,40 (m, 1H), 3,32 - 3,22 (m, 2H), 2,86 - 2,61 (m, 2H), 2,47 (td, J = 10,0, 5,0 Hz, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,32 - 2,23 (m, 1H), 2,22 - 2,01 (m, 2H), 1,88 (dd, J = 9,5, 4,0 Hz, 2H), 1,74 (dt, J = 13,4, 3,8 Hz, 1H), 1,50 (s, 9H), 1,42 - 1,30 (m, 1H), 1,09 (dd, J = 10,0, 7,0 Hz, 6H). ^{19}F RMN (376 MHz, metanol-d4) δ -184,32.

Etapa 3B. Clorhidrato de 2-amino-3-metilbutanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo.

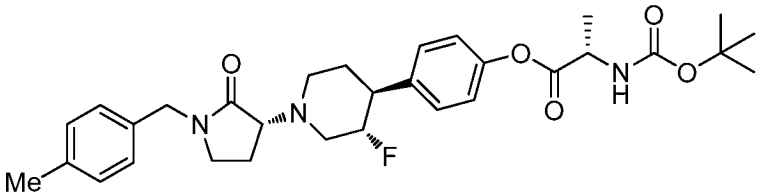


A una solución de 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-metilbutanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo (0,025 g, 0,043 mmol) en DCM (1,5 ml) a -20 °C se le añadió HCl en éter dietílico (2,5 ml, 2,50 mmol, 1,0 M). La mezcla de reacción se calentó lentamente a ta durante 10 min y después se dejó en agitación a ta durante 19 h. Después, el disolvente se eliminó al vacío para proporcionar un semisólido de color amarillo pálido. Después, el producto en bruto se purificó por RP-HPLC en una columna Sunfire C18 (250 X 20 mm) 5 µm usando un gradiente del 10 % de disolvente B al 75 % de disolvente B durante 12 minutos a 15 ml/min, donde el disolvente A = HCl al 0,05 % en agua, y el disolvente B = acetonitrilo. Las fracciones activas se concentraron por liofilización para proporcionar 10,2 mg (44 %) de clorhidrato de 2-amino-3-metilbutanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3 -il)piperidin-4-il)fenilo, el compuesto del título del ejemplo 2 en forma de un sólido de color blanquecino. TR de LC-MS (Método A) = 2,20 min, $(M+H)^+$ = 482,2. ^{1}H RMN: (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 8,64 - 8,78 (m, 3 H) 7,38 - 7,46 (m, 2 H) 7,23 (d, J=8,53 Hz, 2 H) 7,18 (s, 4 H) 5,04 - 5,26 (m, 1 H) 4,42 (d, J=9,54 Hz, 3 H) 4,17 - 4,23 (m, 2 H) 3,29 - 3,40 (m, 4 H) 3,19 - 3,28 (m, 2 H) 2,30 (s, 6 H) 2,04 - 2,19 (m, 2 H) 1,11 (dd, J=12,55, 7,03 Hz, 6 H). ^{19}F RMN (376 MHz, DMSO-d6) δ -183,904.

Ejemplo de referencia 4. Clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo

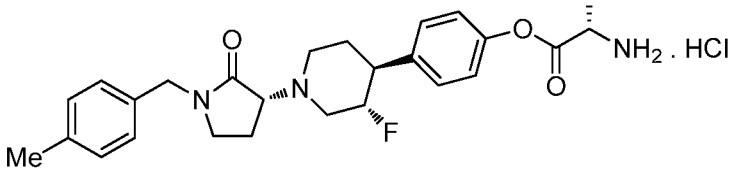


Etapa 4A. 2-((*terc*-Butoxicarbonil)amino)propanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo



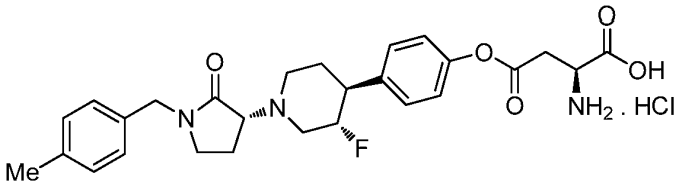
A una solución de (*R*)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (0,03 g, 0,078 mmol, ejemplo 1) en DCM (5 ml) se le añadió ácido (S)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propanoico (0,077 g, 0,408 mmol) seguido de DCC (0,049 g, 0,235 mmol) y DMAP (9,58 mg, 0,078 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 18 h. Después, se añadió agua (15 ml), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 15 ml) y las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, y se concentraron para dar un producto en bruto. El producto en bruto se purificó por TLC preparativa eluyendo con acetato de etilo al 20 % en éter de petróleo para proporcionar el producto purificado 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((R)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo (0,032 g, 0,058 mmol, 74 % de rendimiento) en forma de un semisólido de color blanquecino. TR de LC-MS (Método A) = 2,40 min, $(M+H)^+$ = 554,2. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,51 (d, J=7,0 Hz, 1H), 7,44 - 7,32 (m, J=8,5 Hz, 2H), 7,21 - 7,09 (m, 4H), 7,07 - 6,98 (m, J=8,5 Hz, 2H), 4,62 (d, *J = 4,5* Hz, 1H), 4,39 (d, J = 15,1 Hz, 1H), 4,30 (d, J = 15,1 Hz, 1H), 4,27 - 4,17 (m, 1H), 3,58 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 3,50 - 3,40 (m, 1H), 3,22 - 3,07 (m, 2H), 2,81 - 2,64 (m, 3H), 2,39 - 2,31 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,17 - 2,04 (m, 1H), 1,93 (dd, J = 12,8, 8,3 Hz, 1H), 1,78 (s a, 1H), 1,74 - 1,59 (m, 1H), 1,41 (s, 9H), 1,39 (d, J = 2,5 Hz, 3H). ^{19}F RMN (376 MHz, DMSO-d6) δ - 180,172.

Etapa 4 B. Clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo

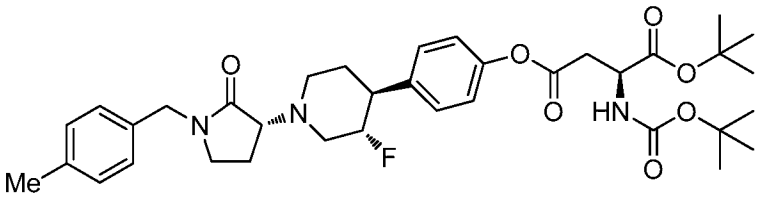


A una solución de 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((R)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo (0,032 g, 0,058 mmol) en DCM (2 ml) a -20 °C se le añadió HCl en éter dietílico (2,0 ml, 2,0 mmol, 1,0 M). La mezcla de reacción se calentó lentamente a ta durante 10 min y después se dejó en agitación a ta durante 19 h. Después, el disolvente se eliminó al vacío para proporcionar un semisólido de color amarillo pálido. Después, el producto en bruto se purificó por RP-HPLC en una columna Kinetex C18 (250 X 20 mm) 5 µm usando un gradiente del 10 % de disolvente B al 40 % de disolvente B durante 7 minutos a 15 ml/min, donde el disolvente A = HCl al 0,05 % en agua, y el disolvente B = acetonitrilo. Las fracciones activas se concentraron por liofilización para proporcionar 4,7 mg (16 %) de clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo, el compuesto del título del ejemplo 4 en forma de un sólido de color blanquecino. TR de LC-MS (Método A) = 1,762 min, $(M+H)^+$ = 454. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,41 (d, J=9,0 Hz, 2H), 7,24 - 7,10 (m, 6H), 5,10 - 4,85 (m, 1H), 4,45 - 4,22 (m, 4H), 4,04 - 3,94 (m, 1H), 3,34 - 3,18 (m, 4H), 3,06 (d, J = 12,0 Hz, 2H), 2,43 - 2,31 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,24 - 2,14 (m, 1H), 2,13 - 2,01 (m, 1H), 2,01 - 1,85 (m, 1H), 1,58 (d, J = 7,0 Hz, 3H). ^{19}F RMN (376 MHz, DMSO-d6) δ -183,778.

Ejemplo de referencia 5. Clorhidrato del ácido (S)-2-amino-4-(4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenoxi)-4-oxobutanoico

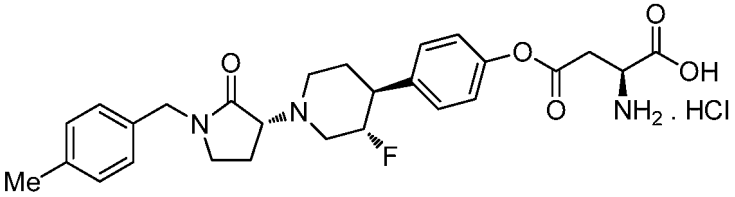


Etapa 5 A. 4-(4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenil) 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)succinato de (S)-1-*terc*-butilo



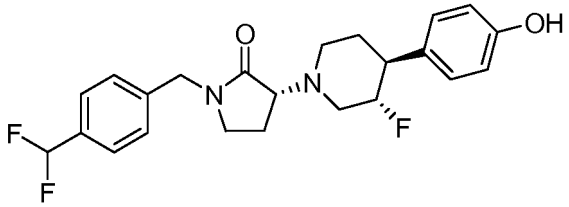
A una solución de (*R*)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (0,03 g, 0,078 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió ácido (S)-4-(*terc*-butoxi)-3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-4-oxobutanoico (0,118 g, 0,408 mmol) seguido de DCC (0,049 g, 0,235 mmol) y DMAP (9,58 mg, 0,078 mmol). La reacción se agitó a ta durante 18 horas. Después, se añadió agua (15 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 15 ml) y las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, y se concentraron para dar un producto en bruto. El producto en bruto se purificó por TLC preparativa eluyendo con acetato de etilo al 25 % en éter de petróleo para proporcionar el producto purificado (37 mg, 68 %) en forma de un semisólido de color blanquecino. TR de LC-MS (Método A) = 2,55 min, $(M+H)^+$ = 654,4. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,46 - 7,34 (m, 2H), 7,20 - 6,98 (m, 6H), 4,82 - 4,53 (m, 1H), 4,43 - 4,24 (m, 2H), 4,11 (d, J = 14,1 Hz, 1H), 3,58 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 3,48 - 3,39 (m, 1H), 3,22 - 3,07 (m, 3H), 3,02 (dd, J = 16,1, 6,5 Hz, 1H), 2,87 (dd, J = 15,8, 7,8 Hz, 1H), 2,78 - 2,63 (m, 2H), 2,38 - 2,31 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,17 - 2,03 (m, 1H), 1,98 - 1,86 (m, 1H), 1,78 (s a, 1H), 1,74 - 1,58 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,39 (s, 9H). ^{19}F RMN (376 MHz, DMSO-d6) δ -180,707.

Etapa 5 B. Clorhidrato del ácido (S)-2-amino-4-(4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenoxi)-4-oxobutanoico



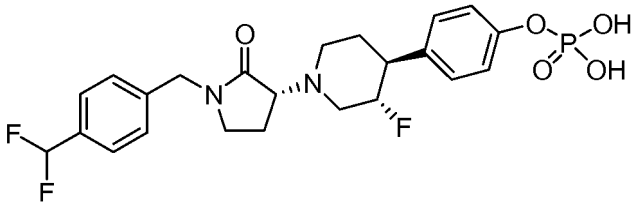
A una solución de 4-(4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenil) 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)succinato de (S)-1-*terc*-butilo (0,032 g, 0,049 mmol) en DCM (2 ml) a -20 °C se le añadió HCl en éter dietílico (2,0 ml, 2,0 mmol, 1,0 M). La mezcla de reacción se calentó lentamente a ta durante 10 min y después se dejó en agitación a ta durante 19 h. Después, el disolvente se eliminó al vacío para proporcionar un semisólido de color amarillo pálido. Después, el producto en bruto se purificó por RP-HPLC en una columna YMC Triart C18 (150 X 19 mm) 5 µm usando un gradiente del 10 % de disolvente B al 40 % de disolvente B durante 7 minutos a 15 ml/min, donde el disolvente A = HCl al 0,05 % en agua, y el disolvente B = acetonitrilo. Las fracciones activas se concentraron por liofilización para proporcionar 17 mg (57 %) de clorhidrato del ácido (S)-2-amino-4-(4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metil-bencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenoxi)-4-oxobutanoico, el compuesto del título del ejemplo 5 en forma de un sólido de color blanquecino. TR de LC-MS (Método A) = 1,808 min, $(M+H)^+$ = 498,2 ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,36 (d, *J=8,5* Hz, 2H), 7,21 - 7,03 (m, 8H), 6,75 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,95 - 4,72 (m, 1H), 4,42 - 4,24 (m, 3H), 4,10 (t, *J* = 5,3 Hz, 1H), 4,07 - 4,01 (m, 1H), 3,93 - 3,84 (m, 1H), 3,83 - 3,68 (m, 1H), 3,33 - 3,10 (m, 5H), 3,04 (s a, 1H), 2,93 (s a, 1H), 2,89 - 2,71 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), 1,96 (s a, 1H), 1,82 (s a, 1H). ^{19}F RMN (376 MHz, DMSO-d6) δ -180,707.

Ejemplo de referencia 6. (*R*)-1-(4-(Difluorometil)bencil)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona



Una solución de metanosulfonato de (S)-1-(4-(difluorometil)bencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (500 mg, 1,57 mmol, intermedio M) en 5,0 ml de acetonitrilo se añadió gota a gota durante 1,5 h a una mezcla agitada de clorhidrato de 4-((3S,4S)-3-fluoropiperidin-4-il)fenol (363 mg, 1,57 mmol, intermedio F) y *N,N*-diisopropiletilamina (1,09 ml, 6,26 mmol) en 5,0 ml de acetonitrilo mantenido a 85 °C. Después de la finalización de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó usando cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc al 0-100 %/hexanos) para proporcionar una mezcla diasteromérica (epimerización parcial del estereocentro de lactama) de 1-(4-(difluorometil)bencil)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona (235 mg, 35 % de rendimiento). Una muestra de la mezcla diastereomérica (780 mg) se separó por SFC quiral preparativa (columna = Lux Cellulose-2 (21 x 250 mm, 5 µm); disolvente isocrático = metanol al 20 % (con amoniaco 15 mM)/CO_2 al 80 %; temp. = 35 °C; caudal = 60 ml/min; volumen de inyección = 1,0 ml (~20 mg/ml en MeOH) apilado a intervalos de 13 min; λ = 210 nM; Pico 1 = 19,6 min, Pico 2 = 24,5 min) para proporcionar los compuestos del título del ejemplo 6 (Pico-1, 389 mg) y (S)-1-(4-(difluorometil)bencil)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona (Pico 2, 242 mg). Datos para el Ejemplo 6: LC-MS m/z 419,3 $(M+H^+)$; ^{1}H RMN (500 MHz, cloroformo-d) δ 7,50 (d, *J*=7,9 Hz, 2H), 7,34 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,15 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,91 - 6,80 (m, 2H), 6,65 (t, *J* = 56,4 Hz, 1H), 4,96 (s, 1H), 4,77 - 4,43 (m, 3H), 3,68 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 3,42 - 3,33 (m, 1H), 3,29 - 3,14 (m, 2H), 2,85 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,78 - 2,69 (m, 1H), 2,69 - 2,57 (m, 1H), 2,48 (td, J = 9,9, 4,9 Hz, 1H), 2,21 - 2,11 (m, 1H), 2,04 (dc, *J* = 13,0, 8,6 Hz, 1H), 1,94 - 1,82 (m, 2H)). La configuración relativa y absoluta del Ejemplo 114, P-1 se confirmó por análisis de rayos X de cristal único.

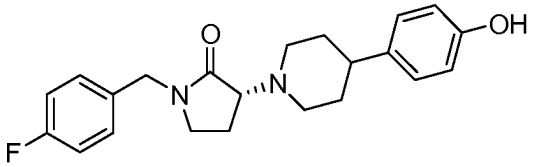
Ejemplo de referencia 7. Dihidrogenofosfato de 4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((R)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo.



A una suspensión de (R)-1-(4-(difluorometil)bencil)-3-((3S,4S)-3-fluoro-4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona (100 mg, 0,239 mmol, del ejemplo 6) en diclorometano (10 ml) se le añadió trietilamina (0,233 ml, 1,67 mmol) a -20 °C. A la solución enfriada se le añadió $POCl_3$ (0,111 ml, 1,20 mmol) a -20 °C, y después la mezcla de reacción se agitó durante 2-3 horas a -20 °C. Se añadió agua (10 ml) y la mezcla se agitó durante 1,5 h. La mezcla se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa de fase inversa en una columna LUNA C8 (250 mm x 19 mm ID) 5 µm eluyendo con un gradiente de disolvente A = acetato de amonio 10 mM en agua a pH 4,5 y disolvente B = acetonitrilo. El compuesto del título del ejemplo 7 (21 mg, 18 %) se aisló de las fracciones apropiadas por liofilización

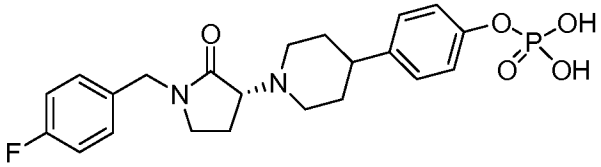
en forma de un sólido de color blanco. LCMS $(M+H)^+$ = 499,2; ^{1}H RMN (400 MHz, METANOL-d4) δ ppm 7,55 (d, *J=8,03 Hz, 2* H) 7,41 (d, J=8,03 Hz, 2 H) 7,21 (s, 4 H) 6,62 - 6,92 (m, 1 H) 4,51 - 4,64 (m, 3 H) 3,76 (t, J=8,78 Hz, 1 H) 3,43 - 3,51 (m, 1 H) 3,36 (d, J=6,02 Hz, 1 H) 3,26 - 3,30 (m, 1 H) 2,81 (s a, 1 H) 2,70 - 2,78 (m, 1 H) 2,59 - 2,69 (m, 1 H) 2,48 (td, J=9,91, 4,77 Hz, 1 H) 2,17 - 2,27 (m, 1 H) 2,06 - 2,15 (m, 1 H) 1,80 - 1,89 (m, 2 H).

Ejemplo de referencia 8. (*R*)-1-(4-Fluorobencil)-3-(4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona



A una solución de 1-(4-fluorobencil)-3-(4-(4-metoxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona (3 g, 7,9 mmol, intermedio S) en diclorometano seco (100 ml) en una atmósfera de N_2 a -78 °C se le añadió tribromuro de boro 1 M en diclorometano (39 ml, 39 mmol) y la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente durante 3 h, con agitación. La reacción se interrumpió con agua (30 ml) y la capa orgánica se separó, se lavó con agua y salmuera y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando EtOAc al 15 % en éter de petróleo para producir 1-(4-fluorobencil)-3-(4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona racémica (2,1 g, 73 % de rendimiento); ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,49 - 1,74 (m, 4 H) 1,90 - 2,11 (m, 2 H) 2,24 - 2,42 (m, 2 H) 2,65 - 2,80 (m, 2 H) 2,99 - 3,23 (m, 3 H) 3,40 - 3,54 (m, 1 H) 4,27 - 4,46 (m, 2 H) 6,61 - 6,70 (m, 2 H) 6,95 - 7,04 (m, 2 H) 7,17 - 7,31 (m, 4 H) 9,10 - 9,16 (m, 1 H). LCMS (ES-API) 369,2 m/z (M+H)+. Una porción del racemato (40 mg) se separó mediante SFC en una columna Chiralpak-IA 250 mm X 4,6 mm, 5 µm eluyendo con el 35 % de disolvente B, donde el disolvente A = CO_2 y el disolvente B = 0,3 % de DEA en metanol a un flujo total de 3 ml/min. El Pico 1 mostró un TR de 4,35 min (11 mg) y el Pico 2 mostró un TR de 6,29 min (13 mg). Datos para el ejemplo 8 (Pico 2): LC/MS $(M+H)^+$ = 369,2; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,47 - 1,59 (m, 1 H) 1,65 - 1,75 (m, 1 H) 1,84 - 1,96 (m, 1 H) 2,03 - 2,12 (m, 1 H) 2,24 - 2,43 (m, 1 H) 2,63 - 2,72 (m, 2 H) 2,72 - 2,85 (m, 2H) 2,96 - 3,05 (m, 2 H) 3,09 - 3,23 (m, 2 H) 3,41 - 3,54 (m, 1 H) 4,23 - 4,50 (m, 2 H) 6,58 - 6,71 (m, 2 H) 6,96 - 7,10 (m, 2 H) 7,15 - 7,21 (m, 2 H) 7,26 - 7,34 (m, 2 H) 9,06 - 9,19 (m, 1 H).

Ejemplo de referencia 9. Dihidrogenofosfato de (*R*)-4-(1-(1-(4-fluorobencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo



Se añadió oxicloruro de fósforo (1,27 ml, 13,6 mmol) en un matraz de fondo redondo cargado con THF (10 ml). La solución se enfrió por debajo de 0 °C usando un baño de hielo/metanol. Se añadió una suspensión de (*R*)-1-(4-fluorobencil)-3-(4-(4-hidroxifenil)piperidin-1-il)pirrolidin-2-ona (1,00 g, 2,71 mmol, ejemplo 8) en THF (18 ml). Después de 5 min, se añadió lentamente trietilamina (0,946 ml, 6,79 mmol) a una temperatura de baño por debajo de 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 90 min. Se añadió gota a gota una solución acuosa 1 N de hidróxido de sodio (8,69 ml, 8,69 mmol). El pH se midió para que fuera ~0. La mezcla se dejó calentar a ta y en agitación durante 3 h. La mezcla de reacción en bruto se concentró al vacío a < 30 °C para proporcionar una solución transparente. La solución se trituró con NaOH acuoso 1 N a pH ~1. La mezcla se enfrió en un baño de hielo. Se formó un semisólido. Todo el líquido se eliminó por decantación. El semisólido se suspendió en etanol al 90 % y después se recogió por filtración al vacío. Se presumió que el producto era la sal de HCl de dihidrogenofosfato de (*R*)-4-(1-(1-(4-fluorobencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo (560 mg, 42 %). Una solución de metóxido de sodio al 25 % en metanol (250 mg, 1,16 mmol) se añadió a una suspensión de dihidrogenofosfato de (*R*)-4-(1-(1-(4-fluorobencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo, HCl (560 mg, 1,16 mmol) en metanol. La mezcla se agitó hasta que estuvo transparente y después se concentró al vacío. El residuo se disolvió en etanol al 90 %/agua y se enfrió en el congelador. El precipitado sólido se recogió usando filtración al vacío. El sólido se secó a alto vacío para proporcionar el compuesto del título del ejemplo 9 (230 mg, 19 % de rendimiento): LC/MS $(M+H)^+$ = 449,2; ^{1}H RMN (500 MHz, metanol-d_4) δ 7,35 - 7,25 (m, 2H), 7,21 - 7,11 (m, 4H), 7,11 - 7,03 (m, 2H), 4,55 - 4,35 (m, 2H), 3,61 (t, J = 8,8 Hz, 1H), 3,30 - 3,20 (m, 2H), 3,19 - 3,11 (m, 1H), 2,92 - 2,84 (m, 1H), 2,75 (td, J = 11,1, 3,5 Hz, 1H), 2,55 - 2,41 (m, 2H), 2,23 - 2,13 (m, 1H), 2,12 - 2,00 (m, 1H), 1,84 - 1,70 (m, 4H); ^{31}P RMN (202 MHz, metanol-d_4) δ ppm - 3,38.

Métodos biológicos

Ensayo de unión a radioligando. Los experimentos de unión para determinar la unión a los receptores NMDA del subtipo NR2B se realizaron en los cerebros anteriores de ratas Sprague Dawley macho de 8-10 semanas (Harlan, Países Bajos) usando ^{3}H Ro 25-6981 (Mutel V; Buchy D; Klingelschmidt A; Messer J; Bleuel Z; Kemp JA; Richards

JG. Journal of Neurochemistry, 1998, 70(5):2147-2155. Las ratas se decapitaron sin anestesia usando una guillotina (aprobada por el comité de ética animal) y los cerebros extraídos se ultracongelaron y se almacenaron en -80 °C durante 3-6 meses para la preparación de la membrana.

Para la preparación de la membrana, los cerebros anteriores de las ratas se descongelaron en hielo durante 20 minutos en un tampón de homogeneización compuesto por KH_2PO_4 50 mM (pH ajustado a 7,4 con KOH), EDTA 1 mM, Triton X 100 al 0,005 % y cóctel inhibidor de proteasa (Sigma Aldrich). Los cerebros descongelados se homogeneizaron usando un homogeneizador Dounce y se centrifugaron a 48000 X g durante 20 min. El sedimento se resuspendió en tampón frío y se homogeneizó de nuevo usando un homogeneizador Dounce. Posteriormente, el homogeneizado se dividió en alícuotas, se ultracongeló y se almacenó a -80 °C durante no más de 3-4 meses.

Para realizar el ensayo de unión competitiva, se añadió homogeneizado de membrana descongelado a cada pocillo de una placa de 96 pocillos (20 µg/pocillo). Los compuestos experimentales se diluyeron en serie en DMSO al 100 % y se añadieron a cada fila de la placa de ensayo para lograr las concentraciones de compuesto deseadas, manteniendo la concentración de DMSO en la placa de ensayo al 1,33 % del volumen de reacción final. A continuación, se añadió ^{3}H Ro 25-6981 (4 nM) a la placa de ensayo. Después de la incubación durante 1 hora a temperatura ambiente, el radioligando unido a la membrana se recogió en placas de filtro GF/B (tratadas con PEI al 0,5 % durante 1 h a temperatura ambiente). Las placas de filtro se secaron a 50 °C durante 20 min, se incubaron con microscint 20 durante 10 minutos y finalmente, los recuentos se leyeron en TopCount (Perkin Elmer). La unión no específica se determinó usando MK-0657 (la preparación de este compuesto se describe como en el ejemplo 1 en el documento WO 2004 108705 (40 µM). Los valores de CPM se convirtieron en % de inhibición y las curvas de respuesta a la concentración se trazaron usando un software hecho a medida. Cada experimento se repitió al menos dos veces para obtener los valores de K_i de unión finales para los compuestos experimentales. Usando este ensayo, el compuesto del ejemplo 1 mostró una Ki de unión de 4 nM, el compuesto del ejemplo 6 mostró una Ki de unión de 4 nM, el compuesto del ejemplo 8 mostró una Ki de unión de 1,4 nM.

Ensayo de ocupación ex vivo. Este ensayo demuestra que el compuesto del ejemplo 1 ocupa receptores del subtipo NR2B residentes en el cerebro en animales después de la dosificación. Se dosificaron por vía intravenosa ratones macho CD-1 de 7-9 semanas de edad en un vehículo que consistía en un 10 % de dimetilacetamida, un 40 % de PEG-400, un 30 % de hidroxipropil betaciclodextrina, y un 30 % de agua con compuestos experimentales, y los cerebros anteriores se extrajeron 15 minutos después de la dosificación por decapitación. Las muestras de cerebro se ultracongelaron inmediatamente y se almacenaron a -80 °C. Al día siguiente, las muestras de cerebro dosificadas se descongelaron en hielo durante 15-20 minutos seguido de homogeneización usando Polytron durante 10 segundos en tampón de homogeneización frío compuesto por KH_2PO_4 50 mM (pH ajustado a 7,4 con KOH), EDTA 1 mM, Triton X 100 al 0,005 % y cóctel inhibidor de proteasa (Sigma Aldrich). Los homogeneizados en bruto se homogeneizaron adicionalmente usando un homogeneizador Dounce y las alícuotas de membrana homogeneizadas de todos los animales se ultracongelaron y se almacenaron a -80 °C hasta su uso posterior. Todo el proceso de homogeneización se realizó en hielo.

Para determinar la ocupación, los homogeneizados de membrana se descongelaron primero en hielo y después se homogeneizaron con aguja usando una aguja de calibre 25. La membrana homogeneizada (6,4 mg/ml) se añadió a una placa de 96 pocillos seguido de la adición de ^{3}H Ro 25-6981 (6 nM). La mezcla de reacción se incubó durante 5 minutos en un agitador a 4 °C y después se recogió en placas de filtro GF/B (tratadas con PEI al 0,5 % durante 1 h a temperatura ambiente). Las placas de filtro se secaron a 50 °C durante 20 min, se incubaron con microscint 20 durante 10 minutos y se leyeron en TopCount (Perkin Elmer). Cada grupo de dosis o compuesto consistió en 4-5 animales. El grupo control de animales se dosificó con vehículo en solitario. La membrana de cada animal se añadió por triplicado a la placa de ensayo. La unión no específica se determinó usando Ro 25-6981 10 µM añadido a los pocillos que contenían homogeneizados de membrana de animales dosificados con vehículo. Los recuentos específicos/minuto se convirtieron en % de ocupación en cada dosis de un compuesto para cada animal usando la siguiente ecuación:

$$\%Ocupación\ (animal\ A) = 100 - \left(\frac{específica\ CPM\ de\ animal\ A}{Promedio\ CPM\ de\ control\ grupo} x100\right)$$

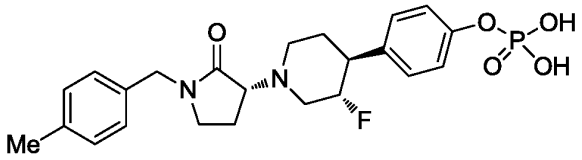
Usando este procedimiento, el compuesto del ejemplo 1 mostró una ocupación del receptor NR2B del 95 % después de una dosis i.v. de 3 mg/kg. Los niveles de fármaco se determinaron mediante espectroscopía de masas de la manera habitual. Los niveles de fármaco en el plasma sanguíneo fueron de 1106 nM a esta dosis, y los niveles de fármaco en el tejido cerebral homogeneizado fueron de 1984 nM. El compuesto del ejemplo 6 mostró una ocupación del receptor NR2B del 97 % después de una dosis i.v. de 3 mg/kg. Los niveles de fármaco en el plasma sanguíneo fueron de 1800 nM a esta dosis, y los niveles de fármaco en el tejido cerebral homogeneizado fueron de 2200 nM. El compuesto del ejemplo 8 mostró una ocupación del receptor NR2B del 96 % después de una dosis i.v. de 3 mg/kg. Los niveles de fármaco en el plasma sanguíneo fueron de 570 nM a esta dosis, y los niveles de fármaco en el tejido cerebral homogeneizado fueron de 900 nM.

Ensayo de electrofisiología hERG. Los compuestos experimentales se evaluaron para determinar la actividad hERG en células HEK 293 que expresaban de manera estable los canales hERG utilizando la técnica de pinzamiento zonal. Se colocaron cubreobjetos cubiertos con células que expresan hERG en la cámara experimental y se perfundieron con una solución compuesta por (en mM): NaCl 140, KCl 4, $CaCl_2$ 1,8, $MgCl_2$ 1, Glucosa 10, HEPES 10 (pH 7,4, NaOH) a temperatura ambiente. Las pipetas de parche de borosilicato tenían resistencias de punta de 2-4 Mohms cuando se llenaban con una solución interna que contenía: KCl 130, $MgCl_2$ 1, $CaCl_2$ 1, EGTA 10, HEPES 10, ATP-K_2 5 (pH 7,2, KOH). Las células se pinzaron a -80 mV en configuración de célula completa utilizando un amplificador de pinzamiento zonal Axopatch 200B (Axon instruments, Union City, CA) controlado por el software pClamp (Axon instruments). Tras la formación de un sello de alta resistencia, el siguiente protocolo de voltaje se aplicó repetidamente (0,05 Hz) para registrar las corrientes de cola: etapa de despolarización de -80 mV a +20 mV durante 2 segundos seguido de una etapa de hiperpolarización a -65 mV (3 segundos) para provocar corrientes de cola y después, de vuelta al potencial de retención. Los compuestos se aplicaron después de la estabilización de la corriente de cola. En primer lugar, las corrientes de cola se registraron en presencia de una solución extracelular en solitario (control) y, posteriormente, en una solución extracelular que contenía concentraciones crecientes de compuestos. Cada concentración de compuesto se aplicó durante 2-5 minutos. El porcentaje de inhibición en cada concentración se calculó como una reducción en la corriente máxima de la cola con respecto a la corriente máxima de la cola registrada en presencia de una solución de control. El análisis de datos se realizó en un software a medida. El porcentaje de inhibiciones a diferentes concentraciones se trazó para obtener una curva de respuesta a la concentración, que posteriormente se ajustó con una ecuación de cuatro parámetros para calcular el valor de CI_{50} de hERG. Usando este procedimiento, el compuesto del ejemplo 1 es un mal inhibidor del canal hERG, con una CI_{50} = 28 µM. El compuesto del ejemplo 6 es un mal inhibidor del canal hERG, con una CI_{50} = 13,5 µM.

Prueba de natación forzada de ratón (mFST). La prueba de natación forzada (FST) es un modelo animal utilizado para evaluar compuestos antidepresivos en estudios preclínicos. La FST se realizó de manera similar al método de Porsolt et al. con modificaciones (Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. Arch Int Pharmacodyn Thér 1977; 229:327-36). En este paradigma, los ratones se ven obligados a nadar en un cilindro ineludible lleno de agua. En estas condiciones, los ratones inicialmente intentarán escapar y eventualmente desarrollarán un comportamiento de inmovilidad; este comportamiento se interpreta como una estrategia pasiva de afrontamiento del estrés o un comportamiento de tipo depresivo. Los tanques de natación se colocaron dentro de una caja de plástico. Cada tanque estaba separado el uno del otro por láminas de plástico opacas a la altura de los cilindros. Tres ratones se sometieron a prueba a la vez. Las sesiones de natación se realizaron durante 6 min colocando ratones en cilindros de vidrio individuales (46 cm de altura x 20 cm de diámetro) que contenían agua (20 cm de profundidad, mantenida a 24-25 °C). A este nivel de agua, la cola del ratón no toca el fondo del recipiente. Se consideró que el ratón estaba inmóvil cuando permanecía flotando pasivamente sin luchar en el agua y solo hacía los movimientos necesarios para mantener su nariz/cabeza por encima del agua y mantenerla a flote. La duración de la inmovilidad se evaluó durante los 6 min totales de la prueba y se expresó como la duración (s) de la inmovilidad. Cada ratón se ensayó solo una vez. Al final de cada sesión, los ratones se secaron con un paño seco y se volvieron a colocar en su jaula en una manta térmica para prevenir la hipotermia. El agua se reemplazó después de cada prueba. Todas las sesiones de prueba se grabaron con una cámara de vídeo (Sony Handicam, Modelo: DCR-HC38E; PAL) y la puntuación se realizó utilizando el software Forced Swim Scan, Versión 2.0 (Clever Systems Inc., Reston, VA, EE.UU.; véanse Hayashi E, Shimamura M, Kuratani K, Kinoshita M, Hara H. Automated experimental system capturing three behavioral components during murine forced swim test. Life Sci. 2011 Feb 28;88(9-10):411-7 y Yuan P, Tragon T, Xia M, Leclair CA, Skoumbourdis AP, Zheng W, Thomas CJ, Huang R, Austin CP, Chen G, Guitart X. Phosphodiesterase 4 inhibitors enhance sexual pleasure-seeking activity in rodents. Pharmacol Biochem Behav. 2011; 98(3):349-55). Para pruebas NCE: El compuesto de prueba se administró en ratones 15 min antes de la sesión de natación por vía i.v. y el tiempo de inmovilidad se registró durante los siguientes 6 min. Al final de la FST, se sacrificó el ratón mediante un método de decapitación rápida, se recogieron muestras de plasma y cerebro y se almacenaron por debajo de -80 °C hasta su posterior análisis. En el ensayo de natación forzada en ratones, el compuesto del ejemplo 1 se dosificó por vía intravenosa en un vehículo del 30 % de hidroxipropil betaciclodextrina/70 % de tampón de citrato a pH 4 a un volumen de dosificación de 5 ml/kg. El compuesto del ejemplo 1 demostró una disminución estadísticamente significativa en el tiempo de inmovilidad a 1 mg/kg en estas condiciones. Los niveles de fármaco fueron 268 +/- 128 nM en el plasma y 749 +/- 215 nM en el cerebro a esta dosis. La ocupación del receptor NR2B se determinó como se informó anteriormente y se determinó que era del 73 %. El compuesto del ejemplo 6 demostró una disminución estadísticamente significativa en el tiempo de inmovilidad a 1 mg/kg a estas mismas condiciones. Los niveles de fármaco fueron de 360 nM en el plasma. Se determinó que la ocupación del receptor NR2B era del 79 %.

REIVINDICACIONES

1. El compuesto dihidrogenofosfato de 4-((3S,4S)-3-fluoro-1-((*R*)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperidin-4-il)fenilo, que tiene la fórmula



,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

3. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para el tratamiento de depresión, enfermedad de Alzheimer, dolor neuropático o enfermedad de Parkinson.

4. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la reivindicación 3 dirigido al tratamiento de la depresión.

5. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la reivindicación 3 dirigido al tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

6. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso de la reivindicación 3 dirigido al tratamiento del dolor neuropático.