

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 944 735**

51 Int. Cl.:

C07D 401/08 (2006.01)

C07D 211/56 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61K 31/451 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61K 31/4545 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.05.2019 PCT/EP2019/061888**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.11.2019 WO19215268**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.05.2019 E 19724152 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.04.2023 EP 3790870**

54 Título: **Compuestos de ciclopentano**

30 Prioridad:

11.05.2018 WO PCT/CN2018/086503

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

23.06.2023

73 Titular/es:

**DIZAL (JIANGSU) PHARMACEUTICAL CO., LTD.
(100.0%)
Huirong Business E Building, East Jinghui Road
Wuxi City, Jiangsu Province, CN**

72 Inventor/es:

**ZHANG, XIAOLIN;
PAN, WEITAO;
NIKITIDIS, GRIGORIOS y
LINDHAGEN, JENNY, SUSANNA, MARIKA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 944 735 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

Compuestos de ciclopentano

5 La presente divulgación se refiere a compuestos de ciclopentano sustituidos y sus sales farmacéuticamente aceptables que inhiben los canales potenciales receptores transitorios canónicos TRPC6 y TRPC3. La presente divulgación también se refiere al uso de estos compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, en medicina, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades en las que la inhibición de la función de TRPC6 o TRPC3 tiene importancia terapéutica. La presente divulgación también se refiere a métodos de tratamiento y métodos de fabricación
10 de medicamentos usando compuestos de acuerdo con la divulgación. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

15 Los canales potenciales receptores transitorios (canales TRP) son un grupo de canales iónicos ubicados principalmente en la membrana plasmática de ciertas células de mamífero. Los canales TRP comúnmente modulan las fuerzas impulsoras de entrada de iones y la maquinaria de transporte de Ca^{2+} y Mg^{2+} en la membrana plasmática. Los siete canales potenciales receptores transitorios canónicos (canales TRPC) son canales catiónicos potenciales que son activados por receptores acoplados a fosfolipasa C (PLC) y se pueden subdividir en cuatro subgrupos: grupo 1 (TRPC1), grupo 2 (TRPC2), grupo 3 (TRPC3, TRPC6 y TRPC7) y grupo 4 (TRPC4 y TRPC5). De estos, los TRPC del grupo 3, es decir, TRPC3, TRPC6 y TRPC7, interactúan físicamente y, tras la coexpresión, se coensamblan para formar canales tetraméricos funcionales. La homología de secuencia entre los TRPC 3, 6 y 7 es de casi el 75 %.

25 TRPC6, un miembro de la subfamilia potencial receptora transitoria canónica (TRPC), es un canal de Ca^{2+} no selectivo expresado en podocitos que tiene un papel importante en el mantenimiento de la función de barrera glomerular. La activación de TRPC6 da como resultado la entrada de Ca^{2+} y regula la morfología y la motilidad de los podocitos. Se ha observado que la sobreexpresión de la señalización de TRPC6 causa daño a los podocitos, lo que da como resultado una proteinuria grave.

30 La glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS) es la causa más común de síndrome nefrótico resistente a los esteroides tanto en niños como en adultos. El pronóstico de los pacientes no tratados con FSGS es malo, con más del 60 % de los pacientes no tratados que progresan a la enfermedad renal en etapa terminal (ESRD), también conocida como insuficiencia renal, que es, a su vez, la última etapa de la enfermedad renal crónica. Por lo general, el tiempo desde el diagnóstico de la FSGS hasta la ESRD es de aproximadamente 10 años. Sin embargo, la progresión a ESRD puede ser mucho más rápida, por ejemplo, dentro de los 6 meses. Los informes de la bibliografía sugieren que hasta el 20 % de los pacientes con ESRD se presentan inicialmente con FSGS.

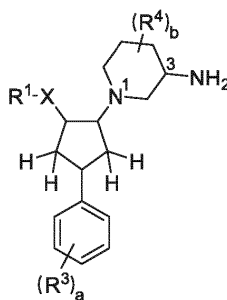
35 Las mutaciones de ganancia de función de TRPC6 se identifican en el tipo familiar o esporádico de FSGS con el fenotipo de proteinuria y resistencia al tratamiento con esteroides, el tratamiento estándar para FSGS. El desarrollo de resistencia al tratamiento con esteroides puede, a su vez, conducir eventualmente a la enfermedad renal crónica (CKD). Un número significativo de pacientes con FSGS presentan una mutación del grupo 6 canónico potencial receptor transitorio (TRPC6) que provoca una ganancia de función (Winn et al., Science. 2005, 308 (5729):1801-4). Por lo tanto, la presencia de mutaciones de ganancia de función de TRPC6 en FSGS tiene importancia pronóstica. En consecuencia, la inhibición de TRPC6 ofrece potencialmente una nueva oportunidad para la intervención terapéutica para el tratamiento de FSGS, especialmente para aquellos pacientes con una mutación de ganancia de función de TRPC6.
45

50 La función del canal TRPC también se ha asociado con una serie de otros trastornos, habiéndose observado sobreexpresión de TRPC3 en distrofia muscular y asociada con degeneración de miofibras (Millay et al PNAS, 2009, 106(45): 19023-19028). Otras condiciones que están asociadas con TRPC3 incluyen hipertrofia cardíaca (Kiyonaka et al, PNAS 2009 106(13) 5400-5405). Además de FSGS, TRPC6 se ha asociado con una variedad de condiciones tales como infarto de miocardio (Varga-Szabo et al., J. Thromb. and Haemost. 2009, 7, 1057-1066) en la que la pérdida de la función de TRPC6 se ha relacionado con una ralentización de la progresión de la disfunción cardíaca y la remodelación cardíaca en el corazón posterior a un infarto de miocardio en modelos *in vivo* (Gross et al, Circulation Research 2016, 119: A296); hipertensión pulmonar (Yu et al., Circulation 2009, 119, 2313-22); disfunción del músculo esquelético (Millay et al., *ibidem*); y proliferación de células cancerosas (Ding et al., J Natl Cancer Inst. (2010) 102 (14): 1052-1068). Por lo tanto, los inhibidores de TRPC6 y TRPC3 tienen potencialmente una amplia aplicación terapéutica.

60 De acuerdo con nuestro conocimiento, hasta la fecha no ha habido inhibidores de TRPC6 o TRPC3, ni inhibidores duales de TRPC6 y TRPC3 que hayan sido aprobados para uso clínico. Por lo tanto, existe la necesidad de nuevos inhibidores de TRPC6 y/o TRPC3 con un perfil farmacológico y farmacéutico adecuado para uso clínico. Es un objetivo de la presente memoria descriptiva proporcionar nuevos compuestos que inhiban TRPC6 y TRPC3 que sean adecuados para su uso como agentes terapéuticos.

65 Ahora hemos descubierto, sorprendentemente, que los derivados de ciclopentano descritos en este documento son capaces de inhibir TRPC6 y TRPC3 y, por lo tanto, pueden ser útiles para el tratamiento de afecciones en las que la función de TRPC6 y TRPC3 tiene importancia farmacológica.

En un aspecto, se proporciona un compuesto de Fórmula I,



Fórmula I

en la que:

X es a) O, y R¹ es un anillo aromático o heteroaromático de 6 miembros seleccionado entre fenilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo o piridazilo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes Y que se seleccionan independientemente entre F, Cl, Br, CN, OH, O-alquilo C₁₋₃, OCF₃, alquilo C₁₋₃, C(O)NH₂, CF₃ o ciclopropilo; o b) NR², y en la que N, R¹ y R² juntos forman un heterociclo aromático de 5 miembros que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes Y que se seleccionan independientemente entre F, Cl, CN, o Me; R³ se selecciona independientemente de F, Cl, CN, metilo, metoxi, hidroxi y etinilo; R⁴ se selecciona independientemente de F o Cl unido a C2, C4 o C5 del anillo de piperidina; y los números enteros a y b se seleccionan independientemente entre 0, 1 o 2; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un diluyente, excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento o profilaxis de enfermedades y condiciones en las que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa. En realizaciones, la memoria descriptiva proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento de la enfermedad renal. En realizaciones, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS). En realizaciones, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS) con una mutación de ganancia de función de TRPC6.

En otro aspecto, se proporciona un método para tratar enfermedades o afecciones en las que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, dicha enfermedad o afección es una enfermedad renal. En realizaciones, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS). En realizaciones, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS) con una mutación de ganancia de función de TRPC6.

En otro aspecto, se proporciona el compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones en las que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa. En una realización, dicha enfermedad o afección es una enfermedad renal. En otra realización, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS). En realizaciones, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS) con una mutación de ganancia de función de TRPC6.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de Fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en medicina.

En otro aspecto, se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula I y los compuestos intermedios usados en la preparación del mismo.

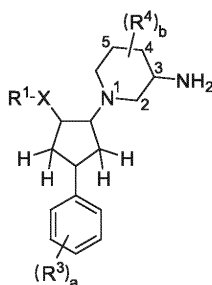
En otro aspecto, el compuesto de Fórmula I es (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina. En realizaciones, (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina se proporciona en una forma cristalina, por ejemplo, una Forma A polimorfa monocristalina como se describe más adelante en el presente documento.

Estos y otros aspectos de la presente solicitud se describen con mayor detalle a continuación.

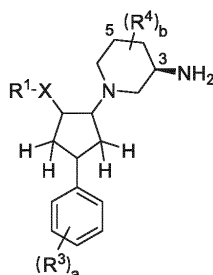
Los compuestos de Fórmula I tienen varios carbonos asimétricos, por ejemplo, cuando $b = 1$ hay dos carbonos asimétricos en el anillo de piperidina, en C3 y C5, y tres en el anillo de ciclopentano, en C1, C2 y C4. La presente descripción abarca todos los posibles enantiómeros y diastereoisómeros de los compuestos de Fórmula I.

5 A los efectos de esta memoria descriptiva, el término "heterociclo aromático de 5 miembros" significa un anillo aromático de 5 miembros que comprende de 1 a 4 átomos de nitrógeno. Los ejemplos de heterociclos aromáticos de 5 miembros adecuados incluyen pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo y tetrazolilo.

10 Para evitar dudas, cuando en esta memoria descriptiva se hace referencia a las posiciones C2 a C5 en el anillo de piperidina, se hace referencia a las posiciones en el anillo de piperidina como se indica a continuación;

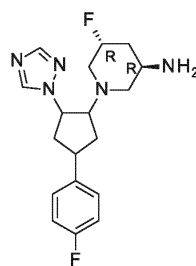


15 En realizaciones, el compuesto de Fórmula es un compuesto de Fórmula Ia en el que el carbono asimétrico en C3 del grupo piperidina está en la configuración (R).



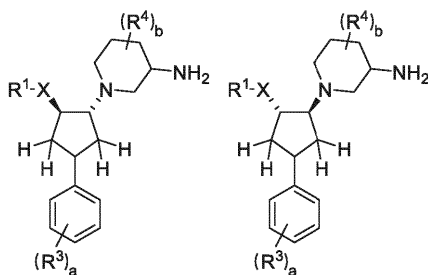
Fórmula Ia

20 Por ejemplo, el compuesto de Fórmula Ia puede ser un compuesto de Fórmula Ia1 en el que los carbonos asimétricos en C3 y C5 del grupo piperidina están en la configuración (R), es decir, el compuesto de Fórmula Ia es (3R,5R)-5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina como se muestra a continuación.



Fórmula Ia1

25 Las realizaciones de los compuestos de Fórmula I y la incluyen compuestos de Fórmula Ib en los que el grupo XR¹ y los grupos piperidina son trans entre sí.

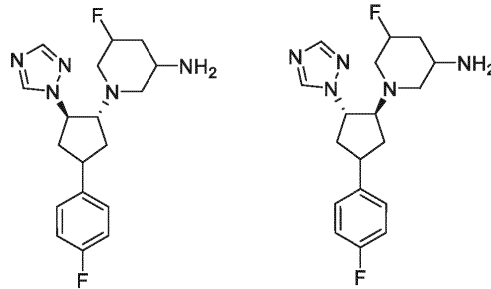


Diastereoisómeros de Fórmula Ib

30

Por lo tanto, en el caso de que no se especifique la estereoquímica de los grupos en el anillo de piperidina, el compuesto puede ser un compuesto de Fórmula Ibi, es decir, 5-fluoro-1-[(1R,2R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina o 5-fluoro-1-[(1S,2S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina como se muestra a continuación.

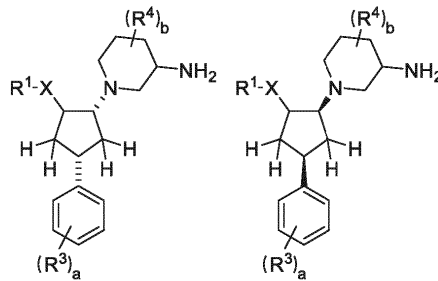
5



Diastereoisómeros de Fórmula Ibi

Las realizaciones de los compuestos de Fórmula I, Ia y Ib incluyen compuestos de Fórmula Ic en los que los grupos piperidina y fenilo están en cis entre sí.

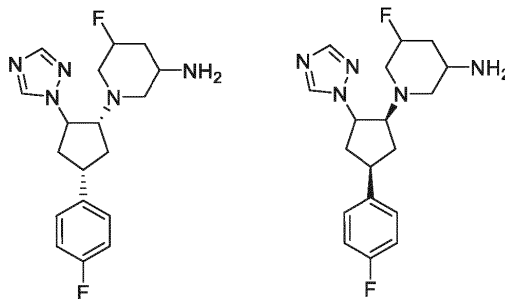
10



Diastereoisómeros de Fórmula Ic

Por lo tanto, en el caso de que no se especifique la estereoquímica de los grupos en el anillo de piperidina, el compuesto de Fórmula Ic puede ser un compuesto de Fórmula Ici, es decir, 5-Fluoro-1-[(1R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina o 5-fluoro-1-[(1S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina como se muestra a continuación.

15

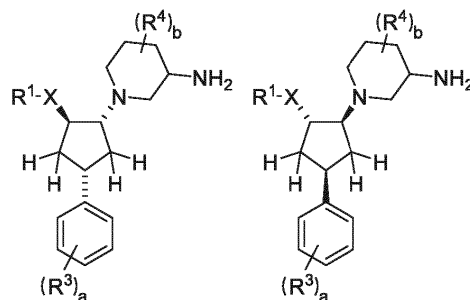


20

Diastereoisómeros de Fórmula Ici

Las realizaciones de los compuestos de Fórmula I, Ia, Ib y Ic incluyen compuestos de Fórmula Id en los que los grupos piperidina y fenilo son cis entre sí, y los grupos piperidina y XR¹ son trans entre sí.

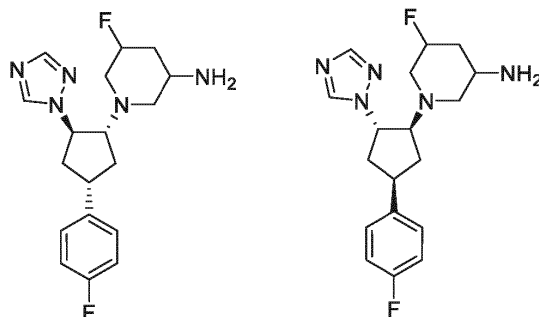
25



Diastereoisómeros de Fórmula Id

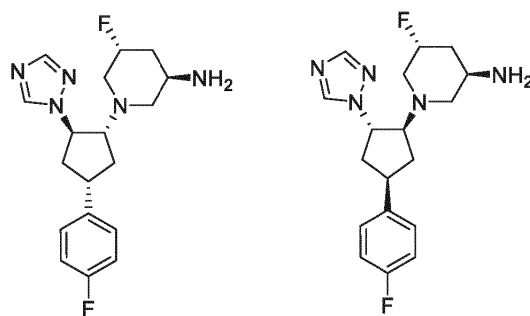
Por lo tanto, en el caso de que no se especifique la estereoquímica de los grupos en el anillo de piperidina, el compuesto de Fórmula Id puede ser un compuesto de Fórmula Ii, es decir, 5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina o 5-fluoro-1-[(1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina.

5



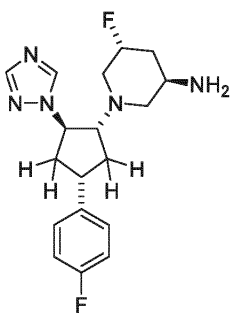
Diastereoisómeros de Fórmula Id

10 En realizaciones de Fórmula Id en las que el grupo piperidina es un grupo 5-fluoro-(3R,5R)-piperidin-3-amina, el compuesto de Fórmula Id puede ser (3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina o (3R,5R)-5-fluoro-1-[(1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina, como se muestra a continuación.



15

En una realización, el compuesto de Fórmula I es (3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina.



20

En realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Ia, Ib, Ic o Id es un compuesto de Fórmula Ie en el que el grupo X es O y R¹ es un anillo aromático o heteroaromático de 6 miembros seleccionado entre fenilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo o piridazilo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes Y seleccionados independientemente entre F, Cl, Br, CN, OH, O-alquilo C₁₋₃, OCF₃, alquilo C₁₋₃, C(O)NH₂, CF₃ o ciclopropilo.

25

En realizaciones, el compuesto de Fórmula Ie es un compuesto de Fórmula If en el que al menos un sustituyente en el anillo R¹ aromático o heteroaromático de 6 miembros se selecciona entre Me, Cl, F y CN.

30 En realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Ia, Ib, Ic o Id es un compuesto de Fórmula Ig en el que el grupo XR¹ es NR² y en el que N, R¹ y R² juntos forman un heterociclo aromático de 5 miembros que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes Y seleccionados independientemente entre F, Cl, CN o Me.

35 En realizaciones, el compuesto de Fórmula Ig es un compuesto de Fórmula Ih en el que al menos un sustituyente en el heterociclo aromático de 5 miembros se selecciona entre Me, Cl, F y CN.

ES 2 944 735 T3

En realizaciones, el compuesto de Fórmula Ig es un compuesto de Fórmula Ii en el que el heterociclo aromático de 5 miembros no está sustituido.

5 En realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If, Ig, Ih o Ii es un compuesto de Fórmula Ij en el que al menos un sustituyente R³ es para con respecto al enlace al anillo de ciclopentano.

En realizaciones, el compuesto de Fórmula Ij es un compuesto de Fórmula Ik en el que el sustituyente R³ es F y a = 1.

10 En realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If, Ig, Ih, Ii, Ij o Ik es un compuesto de Fórmula Il en el que al menos un grupo R⁴ es F.

En realizaciones, el compuesto de Fórmula Il es un compuesto de Fórmula Im en el que b = 1.

15 En realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If, Ig, Ih, Ii, Ij, Ik, Il o Im es un compuesto de Fórmula In, en el que R⁴ se selecciona independientemente entre F o Cl unido a C4 o C5 del anillo de piperidina.

En realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If, Ig, Ih, Ii, Ij, Ik, Il o Im es un compuesto de Fórmula Io, en el que R⁴ es F unido a C4 o C5 del anillo de piperidina.

20 En realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Ia, Ib, Ic o Id se selecciona entre:

- 1-[4-(4-fluorofenil)-2-(triazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo;
- 25 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-3-carbonitrilo;
- 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirrol-3-carbonitrilo;
- 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]triazol-4-carbonitrilo;
- 1-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo;
- 1-[2-(3-amino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo;
- 30 1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 1-[4-(4-fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 35 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]-1,2,4-triazol-3-carbonitrilo;
- 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-hidroxi-fenil)ciclopentoxi]benzonitrilo;
- 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-metoxi-fenil)ciclopentoxi]benzonitrilo;
- 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(3-fluorofenil)ciclopentoxi]-3-cloro-benzonitrilo;
- 4-[2-(3-amino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]benzonitrilo;
- 40 4-[2-(5-amino-3,3-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]benzonitrilo
- 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]-2-fluoro-benzonitrilo;
- 2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi]benzonitrilo;
- 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi]-3-cloro-benzonitrilo;
- 6-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]-5-metil-piridazin-3-carbonitrilo;
- 45 1-[2-(4-cloropiridazin-3-il)oxi-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 6-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]piridazin-3-carbonitrilo;
- 1-[4-(4-fluorofenil)-2-(5-fluoropiridazin-3-il)oxiciclopentil]piperidin-3-amina;
- 6-(2-((R)-3-aminopiperidin-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentiloxi)nicotinonitrilo;
- 6-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]piridin-3-carbonitrilo;
- 50 1-[4-(4-fluorofenil)-2-piridazin-3-iloxi-ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirimidin-4-iloxi-ciclopentil]piperidin-3-amina;
- 2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirimidin-5-carbonitrilo;
- 5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirazin-2-carbonitrilo; y
- 5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirimidin-2-carbonitrilo;
- 55 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un diluyente, excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición farmacéutica incluye un compuesto de Fórmula I en forma de base libre.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento o profilaxis de enfermedades y condiciones en las que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa. En una realización, el uso de es para el tratamiento de la enfermedad renal. En una realización, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS). En una realización, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS) con una mutación de ganancia de función de TRPC6 como se describe en Winn et al., Science. 2005, 308 (5729): 1801-4.

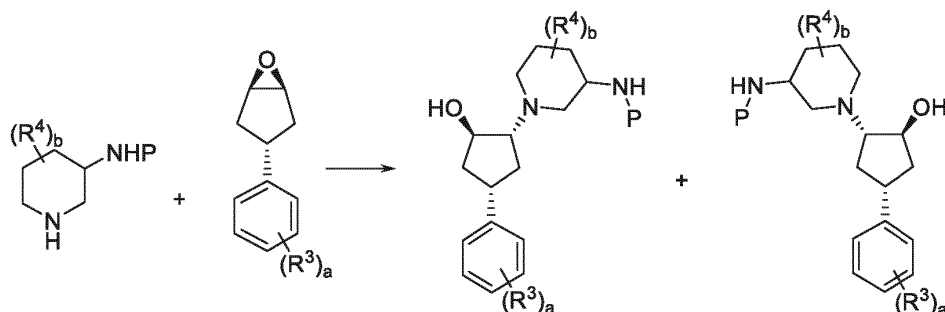
En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones en las que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa. En una realización, dicha enfermedad o afección es una enfermedad renal. En una realización, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS), por ejemplo, FSGS con una mutación de ganancia de función de TRPC6.

En una realización, se proporciona un método para tratar una enfermedad o afección en la que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, dicha enfermedad o afección es una enfermedad renal. En una realización, la enfermedad renal es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS), por ejemplo, FSGS con una mutación de ganancia de función.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como medicamento.

En una realización, se proporciona un proceso para la preparación de compuestos de Fórmula I y los compuestos intermedios utilizados en la preparación de los mismos.

En una realización, el proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula I implica la etapa



En el que P es un grupo adecuado de protección de nitrógeno. P puede ser un grupo protector de carbamato, por ejemplo, un grupo tert-butoxicarbonilo o Boc. El grupo aminopiperidina puede proporcionarse en forma enantiomérica o diastereomérica única. El grupo aminopiperidina se puede proporcionar con un e.e. de > 95 %, un d.e. de > 95 % o un e.e. de > 95 % y una d.e. de > 95 %.

Se ha encontrado que (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, también denominado en este documento Compuesto 10, puede existir como una forma cristalina, "Compuesto 10 Forma A", o simplemente "Forma A". Una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, es decir, el Compuesto 10 Forma A, proporciona un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 1.

Un aspecto proporciona una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina.

Otro aspecto proporciona (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, Forma A, que exhibe los picos característicos de difracción de rayos X en polvo (expresados en grados 2θ) como se muestra en la Tabla 1 a continuación, usando radiación de CuKα.

(3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, Forma A se caracteriza por proporcionar al menos uno de los siguientes valores de 2θ medidos usando radiación de CuKα: 17.1° y 20.2°. (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina Forma A se caracteriza por proporcionar un patrón de difracción de rayos X en polvo, sustancialmente como se muestra en la Figura A. Los trece picos más prominentes se muestran en la Tabla 1:

Tabla 1. Los trece picos de difracción de rayos X en polvo más prominentes para el Compuesto 10, Forma A

Ángulo 2-Theta (2θ)	% de Intensidad	Intensidad relativa
12.3	13.7 %	s
13.4	12.8 %	s
13.6	28.0 %	vs
17.1	77.2 %	vs
18.9	16.7 %	s

(continuación)

Ángulo 2-Theta (2θ)	% de Intensidad	Intensidad relativa
20.2	100 %	vs
20.9	12.8 %	s
21.3	8.2 %	m
21.8	20.1 %	s
22.2	58.3 %	vs
24.5	20.0 %	s
25.3	13.1 %	s
27.0	18.5 %	s

w = débil, m = media, s = fuerte, vs = muy fuerte (véase también la Tabla 3 a continuación)

5 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 17.1°.

10 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 20.2°.

15 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, forma A, que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con al menos dos picos específicos en aproximadamente 2-theta = 17.1° y 20.2°.

20 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos específicos en aproximadamente 2-theta = 12.3, 13.4, 13.6, 17.1, 18.9, 20.2, 20.9, 21.3, 21.8, 22.2, 24.5, 25.3 y 27.0°.

25 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, Forma A, que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente igual al patrón de difracción de rayos X en polvo que se muestra en la Figura 1.

30 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, Forma A, en la que dicha forma tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con al menos un pico específico en 2-theta = 17.1° más o menos 0.5° 2-theta.

De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina, Forma A, en la que dicha forma tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con al menos un pico específico en 2-theta = 20.2° más o menos 0.5° 2-theta.

35 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina, Forma A, en la que dicha forma tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con al menos dos picos específicos en 2-theta = 17.1° y 20.2°, en la que dichos valores pueden ser más o menos 0.5° 2-theta.

40 De acuerdo con una realización de la presente memoria descriptiva, se proporciona una forma cristalina, Forma A, en la que dicha forma tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos específicos en 2-theta = 12.3, 13.4, 13.6, 17.1, 18.9, 20.2, 20.9, 21.3, 21.8, 22.2, 24.5, 25.3 y 27.0° en la que dichos valores pueden ser más o menos 0.5° 2-theta.

45 Cuando se establece que las realizaciones de la presente memoria descriptiva se relacionan con una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina el grado de cristalinidad es convenientemente mayor que aproximadamente 60 %, más convenientemente mayor que aproximadamente 80 %, preferiblemente mayor que aproximadamente 90 % y más preferiblemente mayor que aproximadamente 95 %. Lo más preferiblemente, el grado de cristalinidad es superior a aproximadamente el 98 %.

La forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, la Forma A, proporciona patrones de difracción de rayos X en polvo sustancialmente iguales a los patrones de difracción de rayos X en polvo que se muestran en la Figura 1 y tiene sustancialmente los trece picos más prominentes (valores de ángulo 2-theta) que se muestran en la Tabla 1. Se entenderá que los valores 2-theta del patrón de difracción de rayos X en polvo pueden variar ligeramente de una máquina a otra o de una muestra a otra, por lo que los valores citados no deben interpretarse como absolutos.

En esta memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario, el término "farmacéuticamente aceptable" como se usa en este documento se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

En esta memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario, la frase "cantidad efectiva" significa una cantidad de un compuesto o composición que es suficiente para modificar significativa y positivamente los síntomas y/o condiciones a tratar (p. ej., proporcionar una respuesta clínica positiva). La cantidad efectiva de un ingrediente activo para usar en una composición farmacéutica variará con la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección, la duración fruto de la elaboración, la naturaleza de la terapia concurrente, el o los ingredientes activos particulares que se empleen, el o los excipientes/vehículos farmacéuticamente aceptables particulares utilizados, y factores similares dentro del conocimiento y la experiencia del médico tratante.

El término "tratar", como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, significa revertir, aliviar, inhibir el progreso, retrasar la progresión, retrasar el inicio o prevenir el trastorno o afección a la que se aplica dicho término, o uno o más síntomas de tal trastorno o afección. El término "tratamiento", como se usa en este documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere al acto de tratar como se definió inmediatamente antes "tratar". El término "tratar" también incluye el tratamiento adyuvante y neoadyuvante de un sujeto. Para evitar dudas, la referencia en este documento a "tratamiento" incluye la referencia al tratamiento curativo, paliativo y profiláctico, y a la administración de un medicamento para usar en dicho tratamiento.

Los compuestos de Fórmula I pueden formar sales ácidas o básicas estables farmacéuticamente aceptables, y en tales casos puede ser apropiada la administración de un compuesto como una sal. Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen acetato, adipato, ascorbato, benzoato, bencenosulfonato, bicarbonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, colina, citrato, ciclohexilsulfamato, dietilendiamina, etanosulfonato, fumarato, glutamato, glicolato, hemisulfato, 2-hidroxiethylsulfonato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, hidroximaleato, lactato, malato, maleato, metanosulfonato, meglumina, 2-naftalenosulfonato, nitrato, oxalato, pamoato, persulfato, fenilacetato, fosfato, difosfato, picrato, pivalato, propionato, quinato, salicilato, estearato, succinato, sulfamato, sulfanilato, sulfato, tartrato, tosilato (p-toluenosulfonato), trifluoroacetato y undecanoato. Se prefieren las sales fisiológicamente aceptables no tóxicas, aunque pueden ser útiles otras sales, tales como en el aislamiento o purificación del producto.

Las sales pueden formarse por medios convencionales, tales como por ejemplo, haciendo reaccionar la forma de base libre del producto con uno o más equivalentes del ácido apropiado en un disolvente o medio en el que la sal sea insoluble, o en un disolvente como el agua, que se elimina al vacío o mediante liofilización o intercambiando los aniones de una sal existente por otro anión en una resina de intercambio iónico adecuada.

Los compuestos de Fórmula I tienen más de un centro quiral, y debe entenderse que la solicitud abarca todos los estereoisómeros, enantiómeros y diastereoisómeros individuales y mezclas de los mismos. Por lo tanto, debe entenderse que, en la medida en que los compuestos de Fórmula I pueden existir en formas ópticamente activas o racémicas en virtud de uno o más átomos de carbono asimétricos, la solicitud incluye en su definición cualquier forma ópticamente activa o racémica que posea la actividad antes mencionada. La presente solicitud abarca todos los estereoisómeros que tienen actividad como se define en el presente documento.

La síntesis de formas ópticamente activas puede llevarse a cabo mediante técnicas estándar de química orgánica bien conocidas en la técnica, por ejemplo mediante síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos o mediante resolución de una forma racémica. Los racematos pueden separarse en enantiómeros individuales utilizando procedimientos conocidos (véase, por ejemplo, Advanced Organic Chemistry: 3ª edición: autor J. March, págs. 104-107). Un procedimiento adecuado implica la formación de derivados diastereoisómeros por reacción del material racémico con un auxiliar quiral, seguida de separación, por ejemplo por cromatografía, de los diastereómeros y luego escisión de las especies auxiliares. Del mismo modo, la actividad antes mencionada puede evaluarse utilizando las técnicas estándar de laboratorio que se mencionan a continuación.

Así, a lo largo de la memoria descriptiva, cuando se hace referencia al compuesto de Fórmula I, debe entenderse que el término compuesto incluye diastereoisómeros, mezclas de diastereoisómeros y enantiómeros que son inhibidores de TRPC6 y TRCP3.

Los estereoisómeros se pueden separar utilizando técnicas convencionales, por ejemplo, cromatografía o cristalización fraccionada. Los enantiómeros pueden aislarse por separación de un racemato, por ejemplo, por

5 cristalización fraccionada, resolución o HPLC o SFC. Los diastereoisómeros pueden aislarse por separación en virtud de las diferentes propiedades físicas de los diastereoisómeros, por ejemplo, por cristalización fraccionada, HPLC o cromatografía ultrarrápida. Como alternativa, se pueden preparar estereoisómeros particulares mediante síntesis quiral a partir de materiales de partida quirales en condiciones que no produzcan racemización o epimerización, o mediante derivatización, con un reactivo quiral.

10 Cuando se proporciona un estereoisómero específico (ya sea por separación, por síntesis quiral o por otros métodos) se proporciona favorablemente sustancialmente aislado de otros estereoisómeros del mismo compuesto. En un aspecto, una mezcla que contiene un estereoisómero particular de un compuesto de Fórmula I puede contener menos del 30 %, particularmente menos del 20 % y más particularmente menos del 10 % en peso de otros estereoisómeros del mismo compuesto. En otro aspecto, una mezcla que contiene un estereoisómero particular del compuesto de Fórmula I puede contener menos del 6 %, particularmente menos del 3 % y más particularmente menos del 2 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto. En otro aspecto, una mezcla que contiene un estereoisómero particular del compuesto de Fórmula I puede contener menos del 1 %, particularmente menos del 0.5 % y más particularmente menos del 0.3 % y aún más particularmente menos del 0.1 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto.

20 También debe entenderse que ciertos compuestos de Fórmula I, y sus sales farmacéuticas, pueden existir en formas solvatadas así como sin solvatar tales como, por ejemplo, formas hidratadas y anhidras. Debe entenderse que los compuestos del presente documento abarcan todas estas formas solvatadas. En aras de la claridad, esto incluye tanto las formas solvatadas (p. ej., hidratadas) de la forma libre del compuesto, así como las formas solvatadas (p. ej., hidratadas) de la sal del compuesto.

25 La Fórmula I, tal como se describe en el presente documento, pretende abarcar todos los isótopos de sus átomos constituyentes. Por ejemplo, H (o hidrógeno) incluye cualquier forma isotópica de hidrógeno, incluidos ^1H , ^2H (D) y ^3H (T); C incluye cualquier forma isotópica de carbono, incluidos ^{12}C , ^{13}C y ^{14}C ; O incluye cualquier forma isotópica de oxígeno, incluidos ^{16}O , ^{17}O y ^{18}O ; N incluye cualquier forma isotópica de nitrógeno, incluidos ^{13}N , ^{14}N y ^{15}N ; F incluye cualquier forma isotópica de flúor, incluidos ^{19}F y ^{18}F ; y similares. En un aspecto, los compuestos de Fórmula I incluyen isótopos de los átomos cubiertos por ellos en cantidades correspondientes a su abundancia natural. Sin embargo, en ciertos casos, puede ser deseable enriquecer uno o más átomos en un isótopo particular que normalmente estaría presente en menor abundancia. Por ejemplo, ^1H normalmente estaría presente en una abundancia superior al 99,98 %; sin embargo, en un aspecto, un compuesto de cualquier fórmula presentada en este documento puede enriquecerse en ^2H o ^3H en una o más posiciones donde está presente H. En otro aspecto, cuando un compuesto de cualquier fórmula presentada en el presente documento se enriquece en un isótopo radiactivo, por ejemplo, ^3H y ^{14}C , el compuesto puede ser útil en ensayos de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Debe entenderse que la presente solicitud abarca todas esas formas isotópicas.

40 Se proporciona un método de tratamiento de una afección en la que se requiere la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3, cuyo método incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a una persona que sufre o es susceptible de padecer tal afección.

45 Los compuestos de Fórmula I, o sus sales farmacéuticamente aceptables, normalmente se administrarán por vía oral en forma de preparados farmacéuticos que comprenden el ingrediente activo o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, o un solvato de dicha sal, en una forma de dosificación farmacéuticamente aceptable. Dependiendo del trastorno y del paciente a tratar, las composiciones pueden administrarse en dosis variables.

50 Las formulaciones farmacéuticas del compuesto de Fórmula I descrito anteriormente se pueden preparar para administración oral, particularmente en forma de comprimidos o cápsulas, y especialmente involucrando tecnologías destinadas a proporcionar una liberación de fármacos dirigida al colon (Patel, M. M. Expert Opin. Drug Deliv. 2011, 8 (10), 1247-1258).

55 Las formulaciones farmacéuticas del compuesto de Fórmula I descrito anteriormente pueden administrarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, (1985).

60 Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden incluir uno o más vehículos y/o excipientes fisiológicamente compatibles y pueden estar en forma sólida o líquida. Los comprimidos y cápsulas se pueden preparar con agentes aglutinantes, rellenos, lubricantes y/o tensioactivos, como laurilsulfato de sodio. Las composiciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes y/o conservantes. Las composiciones líquidas se pueden encapsular, por ejemplo, en gelatina para proporcionar una forma de dosificación unitaria. Las formas farmacéuticas orales sólidas incluyen comprimidos, cápsulas de cubierta dura de dos piezas y cápsulas de gelatina elástica blanda (SEG). Tales cápsulas de cubierta dura de dos piezas se pueden fabricar, por ejemplo, llenando un compuesto de fórmula (I) en una cubierta de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

65 Una formulación de cubierta seca típicamente comprende aproximadamente 40 % a 60 % p/p de concentración de gelatina, aproximadamente 20 % a 30 % de concentración de plastificante (como glicerina, sorbitol o propilenglicol) y

ES 2 944 735 T3

aproximadamente 30 % a 40 % de concentración de agua. También pueden estar presentes otros materiales como conservantes, colorantes, opacificantes y sabores. El material de relleno líquido incluye un fármaco sólido que se ha disuelto, solubilizado o dispersado (con agentes de suspensión como cera de abejas, aceite de ricino hidrogenado o polietilenglicol 4000) o un fármaco líquido en vehículos o combinaciones de vehículos tales como aceite mineral, aceites vegetales, triglicéridos, glicoles, polioles y agentes tensioactivos.

Las dosis diarias adecuadas de los compuestos de Fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el tratamiento terapéutico de seres humanos son aproximadamente 0.0001-100 mg/kg de peso corporal.

Se prefieren las formulaciones orales, particularmente comprimidos o cápsulas que pueden formularse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica para proporcionar dosis del compuesto activo en el intervalo de 0.1 mg a 1000 mg.

De acuerdo con otro aspecto, se proporciona así una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclado con al menos un adyuvante, diluyente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Ensayos biológicos

Se pueden emplear los siguientes procedimientos de prueba para determinar las propiedades inhibitorias de los compuestos descritos en el presente documento.

La apertura de los canales TRPC3 y TRPC6 provoca un flujo de entrada de cationes de calcio y sodio de manera eficiente que dan como resultado un cambio en el potencial eléctrico a través de la membrana celular. Este cambio en el potencial de membrana puede monitorearse utilizando tintes de potencial de membrana en los siguientes ensayos FLIPR^{MC} (lector de placas de imágenes fluorescentes).

Inhibición de TRPC6 - Ensayo FLIPR^{MC}

TRPC6-HEK293 se adquirió a través de PerkinElmer (PerkinElmer, Producto No.: AX-012-C), las células HEK293 se transfectaron utilizando el vector de expresión pcDNA3.1(+) que contenía la secuencia codificante del canal iónico humano TRPC6. La secuencia de codificación utilizada es idéntica a la secuencia de codificación de GenBank NM_004621 con la excepción de 2 variaciones sinónimas (t1683c y c2529t). Las células se cultivaron en DMEM + suero fetal bovino (FBS) al 10 % + 0.5 mg/mL de Geneticina (selección de expresión del canal iónico) como medio de cultivo.

Se sembraron células TRPC6 a razón de 10K células/pocillo en placas de poliestireno de 384 pocillos y luego se cultivaron durante 24 h a 37 °C más CO₂ al 5 %. Después de este tiempo, el medio se aspiró con un lavador de placas Tecan y luego se reemplazó con 40 µL de tampón de carga de colorante (NaCl 130 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 0.15 mM, MgCl₂ 1 mM, HEPES 20 mM (ácido (4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico)), NaHCO₃ 5 mM). Para TRPC6, se utiliza una concentración final de 0.5x. Luego, las células con colorante de potencial de membrana se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de comenzar los experimentos.

Para probar los efectos de los compuestos sobre la actividad de TRPC6, los compuestos se diluyeron primero en DMSO al 100 % hasta 3 veces la concentración final que se usaría en los experimentos. Los experimentos típicos de dosis-respuesta oscilaron entre 10 µM (concentración superior) y 0.5 nM (concentración más baja). Se añadieron diez microlitros del compuesto 5x en DMSO al 0.5 % a 40 µL de células incubadas con colorante de potencial de membrana. La adición de compuestos se realizó en un FLIPRTetra o un FLIPR 384 (MDS Analytical Technologies, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, 94089, EE. UU.). Después de una incubación de 400 segundos con el compuesto, se agregaron 12.5 µL de OAG (1-oleoil-2-acetil-sn-glicerol (OAG), Sigma, Gillingham, Dorset, SP8 4XT Cat # O6754-10MG) a 5 veces la EC₈₀ (típica para TRPC6 = 3 µM final). El desafío con OAG está diseñado para medir la actividad inhibitoria de los compuestos en la activación de TRPC6 operada por el receptor.

Todos los datos se normalizaron a controles bajos (tampón solo) o controles altos (EC₁₀₀ de OAG). Los datos se analizaron usando un módulo de ajuste de curvas XC₅₀ y se informaron como valores pIC₅₀ o IC₅₀. Los valores se promedian para determinar un valor medio, para un mínimo de 2 experimentos.

Inhibición de TRPC3 - Ensayo FLIPR^{MC}

Las células AD293 se transfectaron utilizando el vector de lentivirus PLVX-puro que contenía la secuencia codificante del canal iónico humano TRPC3. Las células resistentes a puromicina se seleccionaron mediante tratamiento con 2 µg/mL de puromicina durante dos semanas. Las células monoclonales se obtuvieron mediante dilución limitante y se compararon en cuanto a su respuesta a OAG en un ensayo de potencial de membrana. Las células se cultivaron en DMEM + suero fetal bovino (FBS) al 10 % + 1 µg/mL de puromicina como medio de cultivo.

Se sembraron células TRPC3 a razón de 9 K/pocillo en placas de poliestireno de 384 pocillos. Las células se cultivaron durante 24 horas a 37 °C más CO₂ al 5 %, después de lo cual se aspiró el medio utilizando un lavador de placas Tecan

ES 2 944 735 T3

y se reemplazó con 40 µl de tampón de carga de colorante (NaCl 130 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 0.15 mM, MgCl₂ 1 mM, HEPES 20 mM ((ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico)), NaHCO₃ 5 mM). Para TRPC3, se usó una concentración final de colorante de potencial de membrana de 0.5x (Molecular Devices Membrane Blue, kit de ensayo de potencial de membrana FLIPR (a granel), Product0 # R8034(BLUE), Molecular Devices, Sunnyvale, CA, 94089, EE. UU.). Luego, las células con colorante de potencial de membrana se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de comenzar los experimentos.

Para probar los efectos de los compuestos sobre la actividad de TRPC3, los compuestos se diluyeron primero en DMSO al 100 % hasta 3 veces la concentración final que se usaría en los experimentos. Los experimentos típicos de dosis-respuesta oscilaron entre 10 µM (concentración superior) y 0.5 nM (concentración más baja). Se añadieron diez microlitros del compuesto 5x en DMSO al 0.5 % a 40 µl de células incubadas con colorante de potencial de membrana. La adición de compuestos se realizó en un FLIPRTetra o un FLIPR 384 (MDS Analytical Technologies). Después de una incubación de 400 segundos con el compuesto, se añadieron 12.5 µl de OAG a 5 veces la EC₈₀ (EC₈₀ típica para TRPC3 = 2 µM final). El desafío con OAG está diseñado para medir la actividad inhibitoria de los compuestos en la activación de TRPC3 operada por el receptor.

Todos los datos se normalizaron a controles bajos (tampón solo) o controles altos (EC₁₀₀ de OAG). Los datos se analizaron usando un módulo de ajuste de curvas XC₅₀ y se informaron como valores PIC₅₀ o IC₅₀. Los valores se promedian para determinar un valor medio, para un mínimo de 2 experimentos.

Ensayos electrofisiológicos de activación de TRPC6 y TRPC3

La activación de los canales TRPC6 y TRPC3 da como resultado una corriente iónica que se puede medir usando la técnica de pinzamiento de parche de células completas (véase Estacion et al., J Physiol. 15 de abril de 2006; 572 (Pt 2): 359-377 y Washburn et al., Bioorg Med Chem Lett., 1 de Sep de 2013; 23(17):4979-84). Se usó OAG 10 µM (OAG es un activador directo del canal TRPC6 y TRPC3) para activar la corriente del TRPC6 o TRPC3 humano en células HEK293 transducidas con TRPC6 o células AD293 transducidas con TRPC3, respectivamente. Las células transducidas con TRPC6 o TRPC3 se incubaron a 37 °C y CO₂ al 5 %. A continuación, las células transducidas se separaron del matraz utilizando una solución de tripsina (tripsina al 0.25 % + EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) al 0.1 %) y luego se almacenaron en medio de cultivo para experimentos de pinzamiento de parche en 5 h. Las células se colocaron en una cámara pequeña y se perfundieron continuamente con una solución externa (~3 mL/min) usando un sistema de perfusión RSC-200 (Science Instruments, Biologic). Todos los registros de corriente se realizan a temperatura ambiente (~22 °C). Los electrodos se fabricaron a partir de tubos capilares de vidrio y dieron una resistencia de 2-4 MΩ cuando se llenaron con las respectivas soluciones internas.

Para el registro de corriente de TRPC6, la solución intracelular contenía (en mM): CsOH 120, Aspartato 120, CsCl 20, MgCl₂ 2, CaCl₂ 0.4, HEPES 10, Na₂ATP 2, Na₃GTP 0.1, Glucosa 10, EGTA 1 (pH 7.2- 7.25, ajustado con CsOH). La solución extracelular contenía (en mM): NaCl 145, KCl 5, CaCl₂ 1, MgCl₂ 1, HEPES 10, Glucosa 10 (pH 7.4 ajustado con NaOH).

Para el registro de corriente de TRPC3, la solución intracelular contenía (en mM): CsCl 130, HEPES 5, EGTA 5, Na₂ATP 5, Na₃GTP 0.1, MgCl₂ 5.5 (pH 7.2-7.25, ajustado con CsOH). La solución extracelular contenía (en mM): NaCl 140, KCl 4, MgCl₂ 1, HEPES 10, CaCl₂ 0.2, Glucosa 10, Na₄EDTA 2 (pH 7.4 ajustado con NaOH).

Se hizo un sello entre la membrana celular y el electrodo. Una vez que se estableció la configuración de la celda completa, la capacitancia de la membrana celular se canceló electrónicamente y la resistencia en serie se compensó en aproximadamente un 70 %. La corriente de TRPC6 o TRPC3 se induce mediante un protocolo de rampa de voltaje de 300 ms (de +100 mV a -100 mV) cada 5 segundos a un potencial de mantenimiento de -60 mV. Una vez que se estabilizó la corriente de control, la cámara de registro se perfundió con una solución externa que contenía un compuesto de prueba. En cada concentración de fármaco, se dejó suficiente tiempo para que el efecto del fármaco alcanzara el estado estacionario.

La corriente de TRPC6 o TRPC3 se midió como la corriente promedio a +100 mV. Se trazó el curso temporal de la corriente para todo el experimento. El porcentaje de inhibición (%) de TRPC6 o TRPC3 se calculó a partir de la fórmula $%I = 100 \times (1 - I_D/I_C)$, donde I_D es la amplitud de la corriente medida al final de una concentración de fármaco en particular e I_C es la amplitud de la corriente de control medida antes de la aplicación del fármaco. El nivel de corriente cero (de fondo) se establece desde el principio antes de que OAG active la corriente de TRPC6 o TRPC3. El amplificador MultiClamp 700B con interfaz Digidata 1440 y el software pCLAMP (AXON Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, 94089, EE. UU.) se utilizan para la adquisición y el análisis de datos. Primero se calcula el porcentaje promedio de inhibición en cada concentración de fármaco. Luego, los datos promedio se ajustan a una función logística utilizando el software Prism 6 para calcular los valores de IC₅₀.

Tabla 2: Inhibición de TRPC6 y hTRPC3 evaluada por el ensayo FLIPR^{MC}

Ejemplo	Nombre*	TRPC6 IC ₅₀ (µM)	TRPC3 IC ₅₀ (µM)
1	1-[4-(4-fluorofenil)-2-(triazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina	0.00337	0.0177

ES 2 944 735 T3

(continuación)

Ejemplo	Nombre*	TRPC6 IC ₅₀ (μM)	TRPC3 IC ₅₀ (μM)
2	1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil] pirazol-4-carbonitrilo	0.00797	0.00831
3	1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil] pirazol-3-carbonitrilo	< 0.0199	0.0464
4	1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil] pirrole-3-carbonitrilo	0.00531	0.00539
5	1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil] triazol-4-carbonitrilo	0.00378	0.00428
6	1-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo	0.00406	0.00622
7	1-[2-(3-amino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo	0.0162	0.0175
8	1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil] piperidin-3-amina	0.0028	0.00797
9	5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil] piperidin-3-amina	0.0034	0.00664
10	5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il) ciclopentil]piperidin-3-amina	0.0298	0.0160
11	5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il) ciclopentil]piperidin-3-amina	0.0106	0.00403
12	1-[4-(4-fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il)ciclopentil] piperidin-3-amina	0.0267	0.00755
13	1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]-1,2,4-triazol-3-carbonitrilo	0.00710	0.0143
14	4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-hidroxi-fenil) ciclopentoxi]benzonitrilo	0.0174	0.0588
15	4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-metoxi-fenil) ciclopentoxi]benzonitrilo	0.00951	0.0225
16	4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(3-fluorofenil) ciclopentoxi]-3-cloro-benzonitrilo	0.0193	0.0695
17	4-[2-(3-amino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]benzonitrilo	0.0207	0.0461
18	4-[2-(5-amino-3,3-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]benzonitrilo	0.0311	0.0425
19	4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]-2-fluoro-benzonitrilo	0.0251	0.0645
20	2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi] benzonitrilo	0.0141	0.0388
21	4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi]-3-cloro-benzonitrilo	0.0174	0.0723
22	6-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]-5-metil-piridazin-3-carbonitrilo	0.0288	0.118
23	1-[2-(4-cloropiridazin-3-il)oxi-4-(4-fluorofenil) ciclopentil]piperidin-3-amina	0.00656	0.0113
24	6-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]piridazin-3-carbonitrilo	> 0.0118	0.00720
25	1-[4-(4-fluorofenil)-2-(5-fluoropiridazin-3-il)oxi-ciclopentil]piperidin-3-amina	0.00993	0.209
26	6-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]piridine-3-carbonitrilo	0.00951	0.0255
27	6-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]piridine-3-carbonitrilo	0.0220	0.0507
28	1-[4-(4-fluorofenil)-2-piridazin-3-iloxi-ciclopentil] piperidin-3-amina	0.0178	0.0322
29	5-fluoro-1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirimidin-4-iloxi-ciclopentil]piperidin-3-amina	0.00344	0.00368
30	2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]pirimidine-5-carbonitrilo	0.0115	0.0240
31	5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]pirazine-2-carbonitrilo	0.0137	0.0255

(continuación)

Ejemplo	Nombre*	TRPC6 IC ₅₀ (μM)	TRPC3 IC ₅₀ (μM)
32	5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil) ciclopentoxi]pirimidine-2-carbonitrilo	0.0106	0.0392

* Los datos se presentan para el isómero aislado más potente de cada compuesto.

Como puede verse en la tabla anterior, el compuesto de la presente divulgación es un inhibidor altamente activo tanto de TRPC6 como de TRPC3, con actividad inhibitora en los ensayos usados en el intervalo por debajo de 30 nM. Esta capacidad para inhibir tanto TRPC6 como TRPC3 puede tener importancia terapéutica, ya que el grado de selectividad puede proporcionar una mayor eficacia terapéutica en relación con un inhibidor selectivo de cualquiera de estos canales potenciales receptores transitorios canónicos del grupo 3. Como se señaló anteriormente, TRPC3 y TRPC6 tienen una homología de secuencia alta y pertenecen a la agrupación del canal potencial receptor transitorio canónico del grupo 3. Por lo tanto, el compuesto de la presente divulgación se ha mostrado prometedor como agente terapéutico para el tratamiento o profilaxis de enfermedades y afecciones en las que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa, por ejemplo, enfermedad renal y, en particular, glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS).

Proceso para la preparación de compuestos

Los compuestos de la memoria descriptiva se pueden preparar como se describe a continuación. Por ejemplo, el Compuesto 10 se puede preparar a partir del material de partida 1-(ciclopent-3-enil)-4-fluorobenceno, disponible a su vez a partir de la metátesis de olefinas de 1-fluoro-4-(hepta-1,6-dien-4-il) benceno. La oxidación del ciclopenteno, con cualquier oxidante adecuado, tal como m-CPBA o peróxido de hidrógeno en ácido fórmico, proporciona un epóxido intermedio que puede experimentar la apertura del anillo nucleófilo con un nucleófilo de piperidina para producir un derivado de ciclopentanol. A continuación, el derivado de ciclopentanol puede transformarse mediante la reacción de Mitsunobu para producir un derivado de 1H-1,2,4-triazol-1-ilo. Los productos finales se obtienen luego por desprotección con Boc en condiciones ácidas. Los detalles completos de una síntesis de los compuestos finales se proporcionan a continuación. Los diversos productos isoméricos posibles obtenidos en cada etapa de síntesis pueden separarse por cromatografía, por ejemplo HPLC preparativa, tal como HPLC preparativa quiral o SFC. Las columnas adecuadas para usar en estas técnicas estándar y los sistemas de eluyentes correspondientes se proporcionan a continuación.

Ejemplos

Los compuestos de la solicitud se explicarán ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

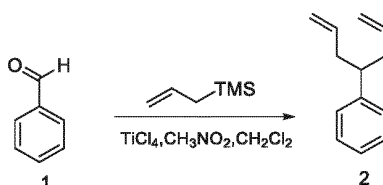
Las medidas de RMN de ¹H se realizaron en espectrómetros Bruker Avance, operando a frecuencias de ¹H de 300 y 400 MHz, respectivamente. Los experimentos se registraron típicamente a 25 °C. Los cambios químicos se dan en ppm con el disolvente como patrón interno. La HPLC generalmente se realizó en Shimadzu UHPLC acoplado con detector DAD, detector ELSD y 2020EV MS, o Shimadzu UFLC acoplado con detector DAD, detector ELSD y 2020EV MS. La cromatografía ultrarrápida se realizó mediante cromatografía ultrarrápida en fase directa en un sistema de purificación SP1^{MC} de Biotage^{MC} utilizando sílice en fase normal FLASH +^{MC} (40M, 25M o 12 M) o cartuchos SNAP^{MC} KP-Sil (340, 100, 50 o 10), con columnas flash C18 o cromatografía flash estándar. En general, todos los disolventes utilizados estaban disponibles comercialmente y eran de grado analítico. Los disolventes anhidros se usaban rutinariamente para las reacciones. Los separadores de fase utilizados en los ejemplos son columnas de separador de fase ISOLUTE®. Los intermedios y ejemplos nombrados a continuación se nombraron usando ACD/Name 12.01 de Advanced Chemistry Development, Inc. (ACD/Labs). Los materiales de partida se obtuvieron de fuentes comerciales o se prepararon a través de las rutas de la bibliografía. Por ejemplo, se adquirió carbamato de tert-butilo ((3R,5R)-5-fluoropiperidin-3-il) de PharmaBlock Inc, 10 Xuefu Road, Nanjing Hi-Tech Zone, China.

Se utilizan las siguientes abreviaturas: AcOH = ácido acético; ac. = acuoso; Boc₂O = decarbonato de di-tert-butilo; Boc = t-butiloxicarbonilo; br = amplio; CDCl₃ = cloroformo deuterado; CD₃OD = metanol deuterado; CH₃NO₂ = nitrometano; d = doblete; δ = desplazamiento químico en RMN con respecto al tetrametilsilano; DCE = 1,2-dicloroetano; DCM = diclorometano; DEA = dietilamina; DEAD = azodicarboxilato de dietilo; DIPEA = N,N-diisopropiletilamina; DMAP = 2,6-dimetilaminopiridina; DMF = N,N-dimetilformamida; DMSO = dimetilsulfóxido; DMSO-d₆ = dimetilsulfóxido deuterado; DPPA = fosforazidato de difenilo; dppf = 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno; DIAD = (E)-diazeno-1,2-dicarboxilato de di-isopropilo; DSC = calorimetría diferencial de barrido; DTAD = (E)-diazeno-1,2-dicarboxilato de di-tert-butilo; ee = exceso enantiomérico; eq. = equivalente; ESI = ionización por electroaspersión; Et₂O = éter dietílico; EtOAc o EA = acetato de etilo; EtOH = etanol; FA = ácido fórmico; catalizador de Grubbs (dicloruro de 1,3-dimesitylimidazolin-2-iliden)(triciclohexilfosfina)rutenio; h = hora(s); HATU = hexafluorofosfato de (dimetilamino)-N,N-dimetil(3-oxido-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridinil)metaniminio; HCl = ácido clorhídrico; H₂O₂ = peróxido de hidrógeno; HP = alta presión; IPA = alcohol isopropílico; LC = cromatografía líquida; LiClO₄ = perclorato de litio; m = múltiplete; mmol = milimoles; mCPBA = ácido meta-cloroperoxibenzoico; MeOH = metanol; min = minuto(s); MeCN = acetonitrilo; MeNO₂ = nitrometano; MS = espectrómetro de masas; NMP = N-metil-2-pirrolidona;

RMN = resonancia magnética nuclear; Pd₂dba₃ = Tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0); Pd(dppf)Cl₂ = dicloruro de 1,1'-bis(di-tert-butilfosfina)ferroceno paladio; PE= Éter de petróleo; PPh₃= Trifenilfosfina; q = cuarteto; ta = temperatura ambiente; Rt o RT = tiempo de retención; s = singlete; sat = saturado; SFC = cromatografía de fluidos supercríticos; t = triple; T3P = 2,4,6-trióxido de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrinofosfinano; TBTU = tetrafluoroborato de 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilisouronio; TFA = ácido trifluoroacético; THF = tetrahidrofurano; TLC = cromatografía en capa fina; TMS = trimetilsililo; Xantphos = 4,5-bis(difenilfosfina)-9,9-dimetilxanteno.

Síntesis de materiales de partida y compuestos intermedios

10 Hepta-1,6-dien-4-ilbenceno D1



15 Una solución de CH₃NO₂ (25.8 g) en DCM (400 mL) se trató con una solución de TiCl₄ (151 mL, 151 mmol, 1.0 M en DCM) a -60 °C, luego con benzaldehído (10 g, 94.2 mmol) en DCM (50 mL). La reacción se agitó a -60 °C durante 0.5 h, luego se enfrió a -78 °C antes de agregar gota a gota aliltrimetilsilano (32 g, 282 mmol) en DCM (50 mL). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 h y -60 °C durante 6 h, luego se vertió en una solución saturada de NH₄Cl (500 mL) y se extrajo con diclorometano (300 mL × 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo) sobre gel de sílice para obtener hepta-1,6-dien-4-ilbenceno D1 (13.7 g, 84 % de rendimiento) como un aceite incoloro.

1-Fluoro-4-(hepta-1,6-dien-4-il)benceno D2

25 Se añadió TiCl₄ (56.9 mL, 0.516 mol) a MeNO₂ (69.5 mL, 1.29 mol) en DCM (1.5 l) a -78 °C durante un período de 20 minutos en atmósfera de N₂. La mezcla resultante se agitó durante 20 min y luego se trató con 4-fluorobenzaldehído (40 g, 0.322 mol) gota a gota durante un período de 20 min. La mezcla resultante se agitó a -70 °C durante 1 h, luego se trató con aliltrimetilsilano (110 g, 0.967 mol) durante un período de 0.5 h. La mezcla resultante se agitó a -70 °C durante 3 h y luego se calentó a 25 °C. La mezcla de reacción se inactivó con hielo/agua (1 L), se extrajo con DCM (3 x 400 mL) y las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), filtraron y evaporaron para producir un aceite amarillo pálido. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (0 a 5 % de EtOAc en pentano) produjo 1-fluoro-4-(hepta-1,6-dien-4-il)benceno (55.0 g, 90 %) como un aceite incoloro. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7.14 (2H, m), 6.98 (2H, m), 5.65 (2H, ddt), 5.01 - 4.83 (4H, m), 2.72 (1H, tt), 2.51 - 2.18 (4H, m).

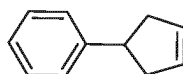
35 1-Fluoro-3-(hepta-1,6-dien-4-il)benceno D3

40 Se hicieron reaccionar TiCl₄ (56.9 mL, 515.65 mmol), MeNO₂ (69.5 mL, 1289.13 mmol) en DCM (1500 mL) con 3-fluorobenzaldehído (40 g, 322.28 mmol) y aliltrimetilsilano (110 g, 966.85 mmol) a -78 °C como se describe para la síntesis de D1. Después del procesamiento, la cromatografía (sílice, 0 a 5 % de EtOAc en pentano) proporcionó 1-fluoro-3-(hepta-1,6-dien-4-il)benceno D3 como un aceite incoloro que se usó sin purificación adicional.

1-Fluoro-4-(hepta-1,6-dien-4-il)-2-metoxibenceno D4

45 Se hizo reaccionar una solución de nitrometano (5.7 g, 4.5 eq.) en DCM (80 mL) y TiCl₄ (33.3 mL, 1.6 eq., 1 M en DCM) con 4-fluoro-3-metoxibenzaldehído (3.5 g, 1.0 eq.) en 20 mL de DCM y luego aliltrimetilsilano (7.2 g, 3.0 eq.) como se describe para la síntesis de D1. La cromatografía en columna (gel de sílice, éter de petróleo) proporcionó 1-fluoro-4-(hepta-1,6-dien-4-il)-2-metoxibenceno D4 (6.5 g, 98 % de rendimiento) como un aceite amarillo. RMN de ¹H (CDCl₃ 400 MHz) δ 7.00 (1H, dd), 6.76 (1H, dd), 6.73 - 6.67 (1H, m), 5.71 - 5.65 (2H, m), 5.02 - 4.95 (4H, m), 3.91 (3H, s), 2.72 - 2.67 (1H, m), 2.44 - 2.33 (4H, m).

50 Ciclopent-3-enilbenceno C1



55 Se añadió catalizador de Grubbs (1.0 g, 0.015 equiv.) a una solución de D1 (13.7 g) en DCM (100 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno durante la noche, etapa en la que la TLC indicó que no quedaba material de partida. Luego, la mezcla de reacción se lavó con agua (200 mL), salmuera (200 mL), luego se secó y se evaporó. La cromatografía en columna (n-heptano) sobre gel de sílice proporcionó ciclopent-3-enilbenceno C1 (6.1 g, 55 % de rendimiento) como un aceite incoloro.

60

ES 2 944 735 T3

1-(Ciclopent-3-enil)-4-fluorobenceno C2

Se añadió catalizador de Grubbs (2.68 g, 3.15 mmol) a 1-fluoro-4-(hepta-1,6-dien-4-il)benzeno (50 g, 0.263 mol) en DCM (500 mL) a 0 °C durante un período de 20 min bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 15 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (0 al 5 % de EtOAc en éter de petróleo) para proporcionar 1-(ciclopent-3-en-1-il)-4-fluorobenceno C2 (30.0 g, 70.4 %) como un líquido incoloro. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7.24 (2 H, m), 6.97 (2 H, m), 5.78 (2 H, d), 3.46 (1H,tt), 2.81 (2 H, m), 2.40 (2H, m).

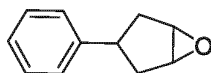
1-(Ciclopent-3-enil)-3-fluorobenceno C3

Se hizo reaccionar 1-fluoro-3-(hepta-1,6-dien-4-il)benzeno (3.5 g) en DCM (40 mL) con catalizador de Grubbs (230 mg, 0.015 eq.) como se describe para la síntesis de C1. La cromatografía en columna (n-heptano) produjo C3 (2.1 g, 70 %) como un aceite incoloro. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.26 - 7.24 (1H, m), 7.04 - 6.88 (3H, m), 5.80 - 5.75 (2H, m), 3.49 - 3.45 (1H, m), 2.87 - 2.81 (2H, m), 2.48 - 2.41 (2H, m).

4-(Ciclopent-3-enil)-1-fluoro-2-metoxibenceno C4

Se hizo reaccionar 1-fluoro-4-(hepta-1,6-dien-4-il)-2-metoxibenceno D4 (4.5 g, 1.0 eq.) en 50 mL de DCM con catalizador de Grubbs añadido (450 mg, 0.025 eq.) como se describe para la síntesis de C1. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo) proporcionó 4-(ciclopent-3-enil)-1-fluoro-2-metoxibenceno (3.1 g, 79 % de rendimiento) como un aceite marrón. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 6.99 - 6.94 (1H, m), 6.85 (1H, dd), 6.76 - 6.62 (1H, m), 5.78 (2H, s), 3.88 (3H, s), 3.44-3.38 (1H, m), 2.82 (2H, dd), 2.45 - 2.38 (2H, m).

3-Fenil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E1



A una solución de ciclopent-3-enilbenzeno C1 (6.1 g, 42.3 mmol) en DCM (80 mL) se le añadió mCPBA (12.8 g, 1.5 eq., 85 %) a 0 °C en porciones. La mezcla se agitó a ta durante la noche. Luego se añadió solución saturada de NaHSO₃ (400 mL) y la suspensión se agitó a ta durante 30 min. Luego, la suspensión se diluyó con agua (200 mL), se extrajo con diclorometano (200 mL) y la capa orgánica se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo/EtOAc 20:1) sobre gel de sílice para proporcionar 3-fenil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E1 (4.9 g, 73 % de rendimiento) como un aceite incoloro.

trans-3-(4-Fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E2



Se añadió gota a gota ácido fórmico (88 %) (392 mL, 9.15 mol) a H₂O₂ (30 %) (262 mL, 2.62 mol) enfriado a 0 °C durante un período de 1 h al aire. A continuación, se añadió 1-(ciclopent-3-en-1-il)-4-fluorobenceno C2 (20 g, 0.123 mol) en DCM (250 mL) a 0 °C durante un período de 3 h al aire. A continuación, la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h, después de lo cual se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice (0 a 10 % de EtOAc en éter de petróleo) para proporcionar trans-3-(4-fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E2 (12.00 g, 54.6 %) como un aceite incoloro. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7.15 (2H, m), 6.99 (2H, m), 3.60 (2H, s), 2.98 (1H, tt), 2.46 (2H, dd), 1.71 (2H, dd).

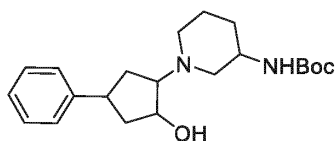
3-(3-Fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E3

Se hicieron reaccionar 1-(ciclopent-3-enil)-3-fluorobenceno C2 (2.1 g) en DCM (50 mL) y mCPBA (3.3 g, 1.5 eq., 85 %) como se describe para la síntesis de E1. La cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 20:1) proporcionó E3 (1.1 g, 47 %) como un aceite incoloro.

3-(4-Fluoro-3-metoxifenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E4

Se hicieron reaccionar mCPBA (5.57 g, 2.0 eq.) y 4-(ciclopent-3-enil)-1-fluoro-2-metoxibenceno C4 (3.1 g, 1.0 eq.) en 50 mL de diclorometano como se describe para la síntesis de E1. La cromatografía en columna proporcionó E4 como el isómero trans (1.3 g, 47 % de rendimiento) y el isómero cis (300 mg, 9 % de rendimiento) como aceites incoloros. RMN de ¹H de trans-E4 (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.00 - 6.95 (1H, m), 6.77 (1H, dd), 6.72 - 6.66 (1H, m), 3.87 (3H, s), 3.58 (2H, s), 2.98 - 2.91 (1H, m), 2.47 - 2.41 (2H, m), 1.71 (2H, dd). RMN de ¹H de cis-E4 (CDCl₃, 400 MHz) δ 6.99 (1H, dd), 6.92 (1H, dd), 6.75 - 6.73 (1H, m), 3.89 (3H, s), 3.57 (2H, s), 3.45 - 3.39 (1H, s), 2.33 (2H, dd), 2.08 (2H, dd).

(3R)-1-(2-hidroxi-4-fenilciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F1

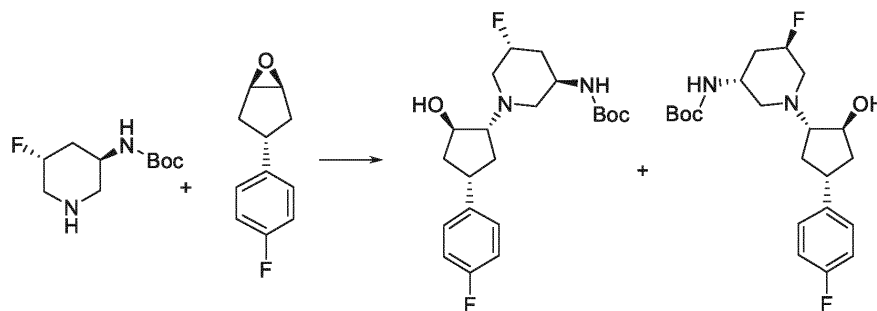


5 A una solución de 3-fenil-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E1 (1.5 g) en CH₃CN (20 mL) se le añadió (R)-piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (2.2 g, 1.2 eq.) y LiClO₄ (2.0 g, 2.0 eq.). La suspensión resultante se calentó a reflujo durante la noche, luego se enfrió y se filtró. El filtrado se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo/EtOAc 1:1) sobre gel de sílice para obtener (3R)-1-(2-hidroxi-4-fenilciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F1 (1.97 g, 59 %) como un sólido amarillo que se usó sin más purificación.

10 (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2a

15 Se trató (R)-1,1'-Bi-2-naftol (1.607 g, 5.61 mmol) en tolueno (50 mL) con dibutilmagnesio (7.29 mL, 1.0 M, 7.29 mmol en n-heptano) a 25°C. Después de 0.5 h de agitación, la reacción se enfrió a 0 °C y luego se añadieron trans-3-(4-fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E2 (10 g, 56.11 mmol) y (R)-piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (11.24 g, 56.11 mmol) en tolueno (150 mL). Después de agitar durante la noche, la mezcla de reacción se vertió en hielo picado, la mezcla se repartió entre DCM y agua. La capa acuosa se extrajo de nuevo con DCM y las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado y salmuera, luego se secaron (sulfato de sodio) y se evaporaron. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice (0 al 10 % de MeOH en DCM) proporcionó (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2b (12.00 g, 56.5 %) como un aceite amarillo RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7.20 (2H, ddt), 6.94 - 7.07 (2H, m), 4.94 (1H, s), 4.32 (1H, t), 3.78 (1H, s), 3.31 (1H, dtd), 2.72 (2H, dd), 2.53 (2H, s), 2.24 (1H, dt), 1.96 - 2.10 (2H, m), 1.52 - 1.86 (4H, m), 1.47 (10H, d). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 379.

25 N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-hidroxi-ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo y N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo F2b



30 Se añadió trans-3-(4-fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E2 (1.225 g, 6.87 mmol) a ((3R,5R)-5-fluoropiperidin-3-ilo)carbamato de tert-butilo (1 g, 4.58 mmol) y Na₂CO₃ (1.457 g, 13.74 mmol) en EtOH (10 mL) a ta. La mezcla resultante se agitó a 90 °C durante 12 h. A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida y se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (0 al 10 % de MeOH en DCM) para producir una mezcla de los estereoisómeros F2b mencionados anteriormente (1.030 g, 56.7 %) como un aceite amarillo LCMS: m/z (ES+), [M+H]⁺ = 397.

35 4,4-Difluoro-1-(4-(4 fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2c

40 Una mezcla de trans 3-(4-fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E2 (450 mg, 1.2 eq.), 4,4-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (500 mg, 1.0 eq.) y Na₂CO₃ (450 mg, 2.0 eq.) en etanol (8 mL) se agitó en condiciones de microondas: 130 °C, 16 h. La mezcla se diluyó con diclorometano y se filtró, el filtrado se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc de 90:10 a 60:40) para obtener 4,4-difluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2c (250 mg, 28 % de rendimiento) como un aceite espeso de color amarillo claro.

45 (3R)-5,5-difluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2d

50 A una solución de (1R,3S,5S)-3-(4-fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano (epóxido trans) E2 (300 mg, 1.0 eq.) en 10 mL de etanol anhidro se le añadió (R)-5,5-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (398 mg, 1.0 eq.) y carbonato de sodio (357 mg, 2.0 eq.) en un vial sellado. La suspensión se irradió en microondas a 130 °C durante 7 h. La suspensión se filtró y se concentró. El residuo se purificó por columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc, gradiente del 0 al 10 % y luego EtOAc al 20 % en DCM) para producir el compuesto (3R)-5,5-difluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2d (290 mg, 42 % de rendimiento) como un sólido blanco.

(3R)-1-(4-(3-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F3

A una solución de 3-(3-fluorofenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E3 (300 mg) en CH₃CN (10 mL) se le añadió (R)-piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (404 mg, 1.2 eq.), LiClO₄ (358 mg, 2.0 eq.). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante la noche. La TLC mostró que el material de partida se había consumido por completo. La mezcla se concentró y al residuo se le añadió acetato de etilo (50 mL) y agua (50 mL). La mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluida con acetato de etilo para obtener (3R)-1-(4-(3-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F3 (580 mg, 90 %).

(3R)-1-(4-(4-fluoro-3-metoxifenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F4

A una solución de 3-(4-fluoro-3-metoxifenil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano E4 (100 mg, 1.0 eq.) en 3 mL de etanol anhidro se le añadió (R)-piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (115 mg, 1.2 eq.) y carbonato de sodio (101 mg, 2.0 eq.) en un vial sellado. La suspensión se irradió en microondas a 130 °C durante 6 h. La suspensión se filtró y se concentró. La cromatografía en columna sobre el residuo (DCM en gel de sílice/metanol, 0 a 3 % de metanol) proporcionó F4 (140 mg, 71 % de rendimiento) como un sólido incoloro. RMN de ¹H (CDCl₃ 400 MHz) δ 6.99 (1H, dd), 6.86 (1H, dd), 6.75 - 6.71 (1H, m), 4.92 (1H, br s), 4.27 - 4.21 (1H, m), 3.89 (3H, s), 3.75 (1H, CC), 3.10 - 3.06 (2H, m), 2.88 - 2.75 (2H, m), 2.53 (2H, m), 2.41 - 2.35 (2H, m), 2.15 - 2.05 (1H, m), 1.90 - 1.66 (6H, m), 1.40 (9H, d).

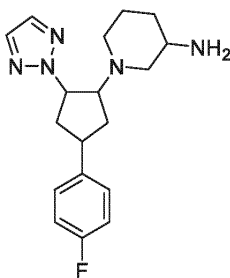
Compuesto 1

Etapa 1. (3R)-1-(4-(4 fluorofenil)-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

Una solución de trans (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2a (600 mg, 1.59 mmol), 1H-1,2,3-triazol (219 mg, 3.17 mmol), DIAD (0.401 mL, 2.06 mmol) y PPh₃ (541 mg, 2.06 mmol) en DCM (20 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (10 a 50 % de MeCN en agua) para proporcionar el compuesto del título (450 mg, 66.1 %) como un sólido blanco. El producto bruto se separó en un Sistema Preparativo Waters SFC 350 [Columna: CHIRALART Amilosa-SA, 2 x 25 cm, 5 µm; Fase móvil A: CO₂: 80, Fase móvil B: MeOH (NH₃ 2 mM - MeOH): 20; Caudal: 40 mL/min; 220 nm]. Se obtuvieron dos fracciones como sólidos blancos: fracción 1 (300 mg, 66.7 %, RT1: 3.03) y fracción 2 (100 mg, 22.2 %, RT2: 4.58).

La fracción 1 se separó adicionalmente en un sistema preparativo SFC 350 de Waters, columna: (R,R)-WHELK-O1-Kromasil, 5 cm x 25 cm (5 µm), Fase móvil A: CO₂: 85, Fase móvil B: MeOH (NH₃ 2 mM - MeOH): 15; Caudal: 40 mL/min; 220 nm; RT1: 2.31; RT2: 2.71. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se evaporaron a sequedad para proporcionar el isómero 1 (120 mg, 40 %, 100 % de ee) y el isómero 2 (120 mg, 40 %, 98.4 % de ee) como sólidos blancos. LCMS m/z (ESI), [M+H]⁺ = 430.

Etapa 2. 1-[4-(4-fluorofenil)-2-(triazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 1



Una solución del isómero 1 (120 mg, 0.28 mmol) obtenida en la etapa 1 en TFA (1 mL) y DCM (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, luego se eliminó el disolvente a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa [Columna: Columna XBridge Prep OBD C18, 30 x 150 mm, 5 µm; Fase móvil A: Agua (que contenía 10 mmol/L NH₄HCO₃ + NH₃ ac. al 0.1 %), Fase móvil B: MeCN; caudal: 60 mL/min; Gradiente: 25 % de B hasta 54 % de B en 8 min; 254/220 nm; Rt: 6.87 min] para proporcionar el Compuesto 1 (70.0 mg, 76 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 330; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7.71 (2H, s), 7.31 (2H, ddd), 7.10 - 6.96 (m, 2H), 5.23 (1H, ddd), 3.58 (2H, ddd), 3.08 - 2.72 (3H, m), 2.52 - 2.17 (3H, m), 1.86 (4H, ddd), 1.75 - 1.45 (2H, m), 1.11 (1H, qd). RMN de ¹⁹F (300 MHz, CD₃OD, 24 °C) δ -118.73 (s, 1F).

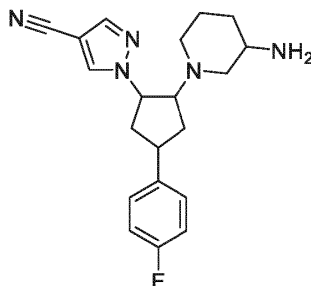
Compuesto 2

Etapa 1. (3R)-1-(2-(4-cyano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una mezcla de (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2a (5 g, 13.21 mmol), 1H-pirazol-4-carbonitrilo (1.230 g, 13.21 mmol), PPh₃ (5.20 g, 19.82 mmol) en DCM (100 mL) se le añadió

DTAD (4.56 g, 19.82 mmol). La reacción se agitó a 25 °C durante 16 horas. La solución resultante se lavó con solución sat. NaHCO₃ y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y luego se concentró a sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida C18 (gradiente de elución de 40 a 55 % de MeCN en agua (con amoníaco al 0.2 %) para producir el producto deseado como un aceite amarillo. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 454. Separación por HPLC quiral preparativa [Chiralpak IA, 2 x 25 cm, 5 μm, Fase móvil A: Hexanos-HPLC, Fase móvil B: IPA-HPLC, Caudal: 20 mL/min, Gradiente: A:B = 70:30, 17.5 min] proporcionó el compuesto del título (isómero 1, 2.60 g, 47.3 %) como un aceite amarillo.

Etapa 2. 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo Compuesto 2



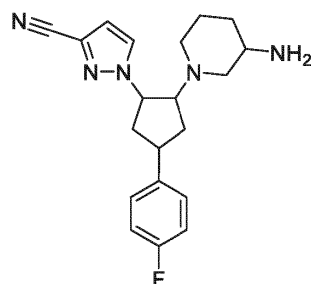
Al isómero 1 obtenido en la etapa 1 (2.6 g, 5.73 mmol) se le añadió HCl en dioxano (50 mL, 200 mmol). La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 4 horas, luego se concentró hasta sequedad. El residuo se trató con Et₂O/MeOH (10/1) y el sólido resultante se recogió, luego se trató con solución sat. Na₂CO₃ y luego se extrajo en EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a sequedad para obtener el Compuesto 2 (1.358 g, 67.0 %) como un sólido de color amarillo claro. RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.74 (1H,s), 8.11 (1H,s), 7.30 - 7.43 (2 H, m), 7.05 - 7.20 (2 H, m), 4.87 - 5.00 (1H, m), 3.26 - 3.41 (2 H, m), 2.79 (1H,d), 2.50 - 2.72 (2 H, m), 2.09 - 2.32 (3 H, m), 1.96 (1H,dd), 1.50 - 1.79 (4H,m), 1.37 (3H,d), 0.83 - 1.02 (1H, m). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 354.

Compuesto 3

Etapa 1. (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

Se añadió gota a gota DTAD (243 mg, 1.06 mmol) a F2a (200 mg, 0.53 mmol), 1H-pirazol-3-carbonitrilo (49.2 mg, 0.53 mmol) y PPh₃ (277 mg, 1.06 mmol) en DCM (15 mL) a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 3 horas. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso y el disolvente se eliminó a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (columna C18) usando mezclas decrecientemente polares de agua (que contenía NH₃ al 0.1 %) y MeCN como eluyente. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se evaporaron a sequedad para producir (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (240 mg, 100 %) como un sólido blanco. Este sólido se purificó por TLC preparativa (DCM:MeOH=40:1), para producir ((3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato de tert-butilo, fracción 1 (90 mg, 37.5 %) como un sólido amarillo y ((3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato de tert-butilo fracción 2 (70.0 mg, 29.2 %) como un sólido amarillo. LCMS para ambas fracciones: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 454; la fracción 1 (90 mg, 0.20 mmol) se purificó mediante HPLC quiral preparativa [columna Chiralpak IE, eluyendo isocráticamente con IPA al 5 % en hexanos (modificado con DEA al 0.1 %) como eluyente para proporcionar ((3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato de tert-butilo, isómero 1 (35.0 mg, 38.9 %, isómero 1, 99.3 % de ee) como un sólido amarillo y el isómero 2 (30.0 mg, 33.3 %, isómero 2, 99 % de ee) como un sólido amarillo. LCMS: (isómero 1) m/z (ESI), [M+H]⁺ = 454; (isómero 2) m/z (ESI), [M+H]⁺ = 454.

Etapa 2. 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-3-carbonitrilo Compuesto 3



Se añadió TFA (0.5 mL, 6.49 mmol) al ((3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato de tert-butilo anterior, isómero 1 (20 mg, 0.04 mmol) en DCM (3 mL). La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas. Columna HPLC preparativa [columna X Select CSH Prep C18 OBD, 5 μm, 19*150 mm; Fase móvil A: Agua (TFA al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 12 % de B hasta 32 % de B en 7 min;

254/220 nm] Compuesto 3, isómero 1, (17.00 mg, 51.8 %) como un sólido blanco. RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 7.75 (dd, 1H), 7.28 - 7.42 (m, 2H), 6.96 - 7.14 (m, 3H), 5.17 (ddd, 1H), 3.81 (dt, 1H), 3.60 (s, 1H), 3.41 (dt, 2H), 3.14 (d, 1H), 2.67 (s, 1H), 2.29 - 2.63 (m, 5H), 1.90 (dt, 2H), 1.44 - 1.74 (m, 2H). RMN de ^{19}F (300 MHz, CD_3OD) δ - 77.287 (m, 10F), -118.609 (s, 1F). LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 354$.

5

Compuesto 4

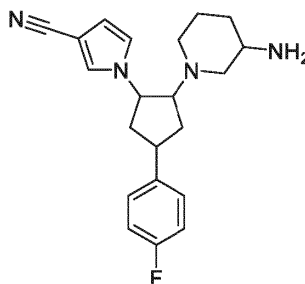
Etapa 1. (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirrol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

10 A una solución de (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2a (250 mg, 0.66 mmol), 1H-pirrol-3-carbonitrilo (60.8 mg, 0.66 mmol), PPh_3 (346 mg, 1.32 mmol) en DCM (15 mL), se la hizo reaccionar con DTAD (304 mg, 1.32 mmol) como se describe para la síntesis del compuesto 3 anterior. Cromatografía en columna ultrarrápida C18, gradiente de elución de 20 a 60 % de MeCN en agua (con $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$ al 0.3 %) se suministró (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirrol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (180 mg, 60.2 %) como un aceite incoloro. HPLC quiral preparativa [Phenomenex Lux 5u Cellulose-4, AXIA Packed, 250*21.2 mm, 5 μm ; Fase móvil A: Hexanos--HPLC, Fase móvil B: IPA--HPLC; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: A:B = 80:20 en 21 min; 254/220 nm; RT1: 12.5; RT2: 17.2 proporcionó (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirrol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (70.0 mg, 38.9 %, isómero 1) como un aceite amarillo y (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirrol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato tert-butilo, isómero 2 (70.0 mg, 38.9 %, isómero 2) como un aceite amarillo. LCMS para ambos isómeros: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 453$.

15

20

Etapa 2. 1-[2-(3-omino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirrol-3-carbonitrilo Compuesto 4



25

Se añadió TFA (1 mL, 12.98 mmol) al (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-pirrol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 2 (70 mg, 0.18 mmol) en DCM (5 mL). La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas. Elaboración estándar, luego HPLC preparativa [Columna XBridge Prep OBD C18, 30 x 150 mm, 5 μm ; Fase móvil A: Agua (10 mmol/L de NH_4HCO_3), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 35 % de B hasta 39 % de B en 35 min; 254/220 nm) proporcionó el Compuesto 4, isómero 2 (20.00 mg, 24.25 %) como un sólido blanco. RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 1.36 (ddd, 2H), 1.50 - 1.93 (m, 3H), 2.13 - 2.45 (m, 5H), 2.63 (dt, 1H), 2.86 - 2.97 (m, 1H), 3.05 (dq, 1H), 3.33 - 3.56 (m, 2H), 4.71 (dd, 1H), 6.48 (dd, 1H), 6.98 - 7.12 (m, 3H), 7.27 - 7.40 (m, 2H), 7.66 (t, 1H). RMN de ^{19}F (300 MHz, CD_3OD) δ -76.962 (m, 3F), -119.017 (s, 1F). LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 353$.

30

35

Compuesto 5

Etapa 1. (3R)-1-(2-(4-ciano-1H-1,2,3-triazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

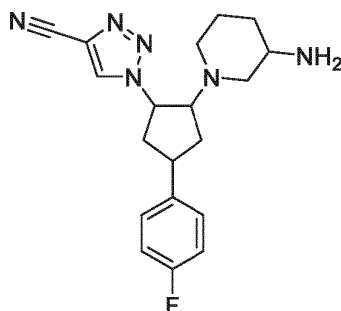
40 Se realizó una reacción de Mitsunobu de F2a (350 mg, 0.92 mmol), 1H-1,2,3-triazol-4-carbonitrilo (87 mg, 0.92 mmol), PPh_3 (485 mg, 1.85 mmol) en DCM (15 mL) y DTAD (426 mg, 1.85 mmol) como se describe para la síntesis del compuesto 3 anterior. La cromatografía en columna ultrarrápida C18 [gradiente de elución de 20 a 60 % de MeCN en agua (con NH_3 ac. al 0.3 %)] proporcionó un aceite incoloro (220 mg, 52.3 %).

45

HPLC quiral preparativa en este aceite [Phenomenex Lux 5u Cellulose-4, AXIA Packed, 250 x 21.2 mm, 5 μm ; Fase móvil A: Hexanos--HPLC, Fase móvil B: IPA--HPLC; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 30 de B hasta 30 de B en 12 min; 254/220nm; RT1: 6.2; RT2: 8.4] proporcionó (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (95 mg, 43.2 %, fracción 1) como un aceite incoloro y (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (95 mg, 43,2 %, fracción 2) como un aceite incoloro. LCMS para ambos isómeros: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 455$.

50

Etapa 2. 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]triazol-4-carbonitrilo Compuesto 5 [0145]



Se añadió TFA (1 mL, 12.98 mmol) a (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, fracción 1 (60 mg, 0.13 mmol) en DCM (5 mL). La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 h y luego se eliminó el disolvente a presión reducida. Purificación por Columna de HPLC preparativa: Columna XBridge Shield RP18, OBD, 5 µm, 19*150 mm; Fase móvil A: Agua (NH₃ al 0,05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 20 % de B hasta 47 % de B en 7 min; 254/220 nm proporcionó el Compuesto 5, isómero 1 (73.0 mg, 56.4 %) como un sólido blanco. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.58 - 1.71 (m, 1H), 1.75 (s, 1H), 1.97 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.74 (br s, 2H), 2.95 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.61 - 3.72 (m, 1H), 3.92 (br s, 1H), 5.53 (s, 1H), 7.01 - 7.15 (m, 2H), 7.31 - 7.42 (m, 2H), 8.34 (dd, 1H). RMN de ¹⁹F (300 MHz, CD₃OD) δ -77.222 (m, 16F), -118.395 (s, 1F), LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 355.

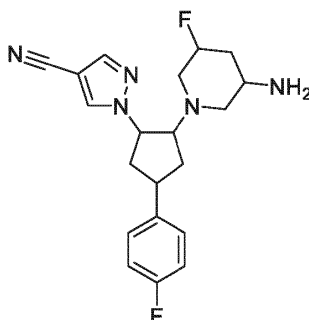
Compuesto 6

Etapa 1. Síntesis de (3R,5R)-1-(2-(4-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

La reacción de Mitsunobu de DIAD (235 mg, 1.16 mmol), PPh₃ (305 mg, 1.16 mmol), 1H-pirazol-4-carbonitrilo (64.9 mg, 0.70 mmol) y F2b (220 mg, 0.58 mmol) en DCM (20 mL) se realizó a ta.

El producto bruto fruto de la elaboración se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida C18, gradiente de elución de 0 a 48 % de MeCN en agua (contiene NH₄HCO₃ al 0.3 %). Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para producir un sólido amarillo pálido (220 mg, 80 %). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 472. El producto bruto se purificó adicionalmente mediante HPLC quiral preparativa [columna Chiralpak IA, eluyendo isocráticamente con EtOH al 30 % en hexanos (modificado con DEA al 0.1 %) como eluyente para obtener (3R,5R)-1-(2-(4-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (100 mg, 45.5 %, 100 % de ee) como un sólido amarillo pálido y (3R,5R)-1-(2-(4-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 2 (98 mg, 44.5 %, isómero 2, 100 % de ee) como un sólido blanco. LCMS para ambos isómeros: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 472.

Etapa 2. 1-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirozol-4-carbonitrilo Compuesto 6



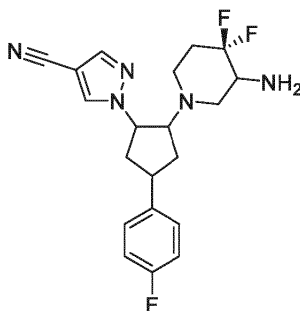
La desprotección con Boc de (3R, 5R)-1-(2-(4-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (100 mg, 0.21 mmol) se llevó a cabo con TFA (3 mL, 38.94 mmol) en DCM (20 mL) a 0 °C. Después de la elaboración estándar, el producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa [(columna XBridge Prep C18 OBD, sílice de 5 µm, diámetro 19 mm, longitud 150 mm), usando mezclas decrecientemente polares de agua (que contenía TFA al 0.05 %) y MeCN como eluyentes]. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se evaporaron a sequedad para proporcionar el Compuesto 6, isómero 1 como la sal de TFA (68.0 mg, 37.1 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 372. RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) 8.52 - 8.44 (1H, d), 8.03 - 7.96 (1H, s), 7.41 - 7.29 (2H,m), 7.13 - 7.00 (2H,m), 5.06 - 4.95 (1.5H,m), 4.81 (0.5H, s) 3.79 - 3.64 (1H,dt), 3.66 - 3.49 (2H,m), 3.14 - 3.03 (1H,d), 3.03 - 2.89 (1H,q), 2.79 - 2.60 (1H,dd), 2.49 - 2.29 (4 H, ddd), 2.26 - 2.15 (1H,d), 1.97 - 1.74 (2 H, m). RMN de ¹⁹F (282 MHz, CD₃OD) δ -77.36, -118.84, -185.37.

Compuesto 7

Etapa 1. 1-(2-(4-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-4,4-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

La reacción de Mitsunobu de (E)-diazeno-1,2-dicarboxilato de di-tert-butilo (220 mg, 0.21 mmol) F2c (220 mg, 0.53 mmol), 1H-pirazol-4-carbonitrilo (10 mg, 0.11 mmol) y PPh₃ (56.4 mg, 0.21 mmol) en DCM (10 mL) a 5 °C bajo atmósfera de nitrógeno, produjo después de la elaboración estándar y cromatografía ultrarrápida con alúmina (gradiente de elución del 0 al 60 % de MeCN en agua), 1-(2-(4-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-4,4-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (120 mg, 46 %) como un aceite incoloro. El producto bruto se purificó más mediante HPLC quiral preparativa [(Columna: Phenomenex Lux 5u Cellulose-4, AXIA Packed, 2.12 x 25 cm, 5 µm; Fase móvil A: Hexanos-HPLC, Fase móvil B: EtOH-HPLC; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: A:B = 80:20 en 40 min; 254/220 nm; RT1: 10.664; RT2: 13.923)] para producir 3 isómeros (todos sólidos blancos y m/z (ESI), [M +H]⁺ = 490.4): isómero 1 (50.0 mg, 41.7 %, 98 % de ee), isómero 2 (40.0 mg, 33.3 %, 98 % de ee) e isómero 3 (30.0 mg, 25.00 %, 100 % de ee); LCMS para todos los isómeros: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 490.
EA

15 Etapa 2. 1-[2-(3-amino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo Compuesto 7



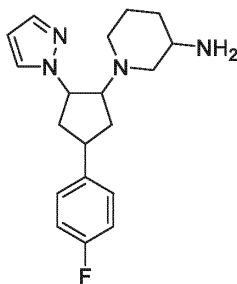
La desprotección con Boc de 1-(2-(4-ciano-1H-pirazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-4,4-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 2 (40 mg, 0.08 mmol) en DCM (3 mL) a 25 °C con TFA (47.5 mg, 0.49 mmol) produjo después de HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 OBD, columna de 19 x 150 mm, 5 µm; fase móvil A: Waters (10 mmol/L de NH₄HCO₃), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 46 % de B hasta 47 % de B en 7 min; 254/220 nm; Rt: 6.05 min. Compuesto 7 (15.00 mg, 47.1 %) como un sólido amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.70 - 2.03 (2 H, m), 2.05 - 2.24 (1H, m), 2.25 - 2.45 (4 H, m), 2.61 (2 H, dddd), 2.80 - 3.11 (2 H, m), 3.45 - 3.87 (2 H, m), 4.94 - 5.03 (1H, m), 6.97 - 7.16 (2 H, m), 7.26 - 7.45 (2 H, m), 7.97 (1H,s), 8.46 (1H,s). RMN de ¹⁹F (282 MHz, CD₃OD) δ -119.11 - -118.71 (m), -107.36, -106.52. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 390.

Compuesto 8

30 Etapa 1. (3R)-1-(4-(4fluorofenil)-2-(1H-pirazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

La reacción de Mitsunobu de F2a (10 g, 26.42 mmol), 1H-pirazol (18 g, 264.40 mmol), PPh₃ (14 g, 53.38 mmol) y DTAD (12 g, 52.11 mmol) en DCM (1.5 l) fue realizada a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Después de la elaboración estándar la cromatografía en columna ultrarrápida C18 (0 a 100 % de MeCN en agua) produjo el producto bruto (9.80 g, 87 %) como un aceite amarillo. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺=429; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 1.47 (9 H, d), 1.52 - 1.82 (6 H, m), 2.20 - 2.55 (6 H, m), 2.66 (1H,d), 3.53 - 3.81 (2 H, m), 4.75 (2 H, s), 6.27 (1H,dt), 7.01 (2 H, t), 7.23 (2 H, td), 7.48 - 7.59 (2H, m). El producto bruto (4.5 g) se purificó mediante un sistema preparativo SFC 350 de Waters [Phenomenex Lux 5u Cellulose-3, 5 cm x 25 cm, 5 µm; Fase móvil A: CO₂: 80 %, Fase móvil B: MeOH (isopropilamina al 0.1 %): 20 %; Caudal: 160 mL/min; 220 nm; RT1: 3.93; RT2: 4.58] para proporcionar (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(1H-pirazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (2.000 g, 44.4 %, 98.7 % de ee, isómero 1) como un sólido amarillo.

Etapa 2. 1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 8



La desprotección con Boc de ((R)-1-((1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-pirazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-il) carbamato de tert-butilo, isómero 1 (2.0 g, 4.667 mmol) en DCM (30.0 mL) con TFA (6.0 mL) se realizó como se describió

ES 2 944 735 T3

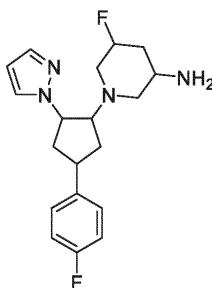
anteriormente. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice (0 a 10 % de MeOH en DCM, hidróxido de amonio al 2 % en DCM se usó para basificar la columna de sílice) proporcionó el Compuesto 8 (1.400 g, 91 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 329; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.10 (1H, dtd), 1.48 - 2.08 (6 H, m), 2.13 - 2.49 (3 H, m), 2.77 (2 H, ddt), 2.89 - 3.02 (1H, m), 3.54 (2 H, ddt), 4.91 (1H, td), 6.31 (1H, t), 7.03 (2 H, ddt), 7.28 - 7.39 (2 H, m), 7.53 (1H, d), 7.79 (1H, dd). RMN de ¹⁹F (376 MHz, CD₃OD) δ -119.16.

Compuesto 9

Etapa 1. (3R, 5R)-5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(1H-pirazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

Se añadió DTAD (1.742 g, 7.57 mmol) a F2b (1.0 g, 2.52 mmol), 1H-pirazol (0,859 g, 12,61 mmol) y PPh₃ (1.985 g, 7.57 mmol) en DCM (50 mL) enfriado a 0 °C durante un período de 5 minutos bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa [columna XBridge Prep OBD C18, 19 x 250 mm, 5 µm; Fase móvil A: Agua (NH₃ ac. al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 60 mL/min; Gradiente: 40 % de B hasta 50 % de B en 7 min; 220/254 nm; RT: 6.48 min] para producir (3R,5R)-5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(1H-pirazol-1-il) ciclopentil) piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (0.700 g, 62.2 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 447.3; RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7.58 (d, 1H), 7.51 (t, 1H), 7.24 (ddd, 2H), 7.11 - 6.94 (m, 2H), 6.29 (q, 1H), 4.73 (d, 2H), 3.68 - 3.46 (m, 3H), 2.83 (s, 1H), 2.74 - 2.52 (m, 2H), 2.39 (t, 3H), 2.34 - 2.19 (m, 1H), 2.00 (s, 1H), 1.78 (dt, 2H), 1.63 (s, 1H), 1.48 (d, 9H). SFC preparativa en un sistema preparativo SFC 350 de Waters [Chiralpak AS-H, 5*25 cm, 5 µm; Fase móvil A: CO₂: 70 %, Fase móvil B: MeOH-preparativo: 30 %; Caudal: 150 mL/min; 220 nm; RT1: 4.2; RT2: 5.31] suministró el producto deseado como el isómero 1 (330 mg, 47.1 %) un sólido blanco y el isómero 2 (335 mg, 47.9 %) una goma amarilla.

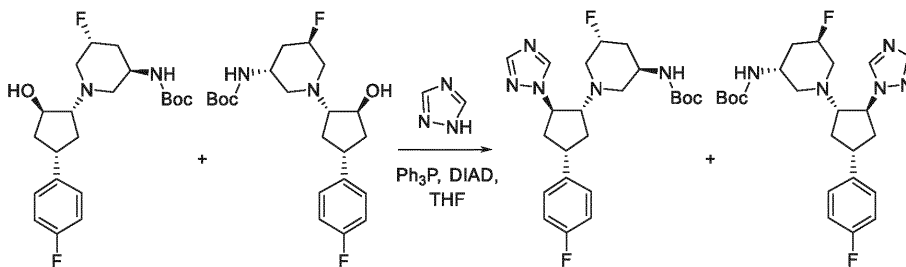
Etapa 2. 5-Fluoro-1-[4-(4-Fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 9



Se añadió TFA (2.0 mL) a ((3R,5S)-5-fluoro-1-((1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-pirazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato de tert-butilo, isómero 1 (328 mg, 0.73 mmol) en DCM (8 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. HPLC preparativa [Columna XBridge Prep OBD C18, 30 × 150 mm, 5 µm; Fase móvil A: Agua (NH₃ H₂O al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 60 mL/min; Gradiente: 25 % de B hasta 50 % de B en 7 min; 254/220nm; Rt: 5,40 min] proporcionó el Compuesto 9 (120 mg, 47.2 %, isómero 1) como un sólido blanco. m/z (ESI), [M+H]⁺=347.1; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7.81 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.43 - 7.25 (m, 2H), 7.12 - 6.97 (m, 2H), 6.32 (t, 1H), 5.01 - 4.88 (m, 1H), 4.75 - 4.64 (m, 1H), 3.67 - 3.45 (m, 2H), 3.17 - 2.83 (m, 3H), 2.49 - 2.15 (m, 4H), 2.14 - 1.74 (m, 3H), 1.43 (dddd, 1H). RMN de ¹⁹F (282 MHz, CD₃OD) δ -119.15, -183.33.

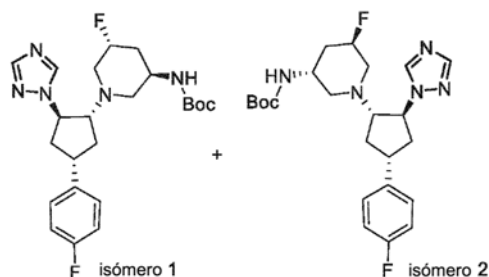
Compuesto 10

Etapa 1. N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo y N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo



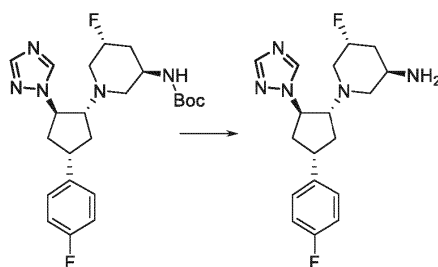
Una solución a 0 °C de una mezcla 1:1 de N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2 -hidroxi- ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo y N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-hidroxi-ciclopentilo]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo (F2b) (12 g, 30.27 mmol), 1H-1,2,4-triazol (3.14 g, 45.40 mmol) y PPh₃ (11.91 g, 45.40 mmol) en THF (150 mL) se trató con azodicarboxilato de diisopropilo (9.18 g, 45.40 mmol). Después de 3 horas a 25 °C, el disolvente se eliminó a presión reducida. Cromatografía en columna ultrarrápida C18 del residuo (10 a 28 % de MeCN

en agua (con TFA al 0.2 %) para obtener los productos de Mitsunobu deseados (12.00 g, 89 %) como un aceite de color amarillo claro.



5 Una mezcla de los diastereómeros de una serie de reacciones descritas anteriormente (es decir, N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo y N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo) (694 g, 1,55 mol) se separó mediante SFC quiral [Columna: CelluCoat, 50 × 250 mm, 10 μm; Fase móvil: 17 % de MeOH en CO₂; Caudal: 450 mL/min; 260 nm; RT1: 2.25 minutos; RT2: 2.88 min] para obtener N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo (isómero 1) (335.3 g, 48.3 %, 99.8 % de ee/de) como un sólido blanco. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 1.44 (9 H, s), 1.73 - 1.93 (3 H, m), 2.17 - 2.44 (4 H, m), 2.55 (1H,s), 2.62 - 2.9 (2 H, m), 3.54 (2 H, dt), 3.94 (1H,s), 4.79 (3 H, ddd), 6.9 - 7.07 (2 H, m), 7.20 (2 H, ddd), 7.97 (1 H, s), 8.19 (1H,s); LCMS: m/z (ES+), [M+H]⁺ = 448; y N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo (isómero 2) (343 g, 49.4 %, 98.1 % de ee/de) como un sólido blanco. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 1.45 (9 H, s), 1.74 (3 H, q), 2.18 - 2.46 (4 H, m), 2.56 - 2.82 (3 H, m), 3.53 (2 H, dtd), 3.97 (1H, s), 4.80 (3H, ddd), 6.93 - 7.06 (2H, m), 7.20 (2H, ddd), 7.97 (1H, s), 8.16 (1H, s); LCMS: m/z (ES+), [M+H]⁺ = 448.

20 Etapa 2. (3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidina-3-amina Compuesto 10



25 La desprotección con Boc de N-[(3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]-3-piperidil]carbamato de tert-butilo, isómero 1 (335 g, 0.75 mol) en isopropanol (1.32 l) en atmósfera de nitrógeno, añadiendo HCl 3.8 M (ac. 1.18 l, 4.5 mol, 6 eq.) a 20 °C, luego se agita durante 15 h a 50 °C. Los disolventes se eliminaron al vacío y el residuo se diluyó con DCM (2.5 l), se enfrió hasta aprox. 10 °C y se basificó a pH 10-11 con Na₂CO₃ 1.5 M (se necesitaron aprox. 2.5 l). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se volvió a extraer con DCM (1,5 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 L) y se secaron sobre Na₂SO₄. Después de la filtración pulida y la evaporación de los disolventes, se obtuvieron 260 g de la (3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidina-3-amina como un sólido amorfo blanco (rendimiento cuantitativo). La cristalización del polimorfo deseado, mencionado anteriormente como Compuesto 10 Forma A o Forma A, se realizó agregando acetato de isopropilo (450 mL) a (3R,5R)-5-fluoro-1-[(1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidina-3-amina (280 g, 804 mmol) y calentando a 70 °C durante 30 minutos (hasta que se produjo una solución homogénea). A continuación, se añadió heptano (450 mL) en porciones durante 20-30 minutos. Después de agitar durante 30 minutos a 70 °C, se disminuyó la temperatura gradualmente y se continuó agitando hasta aprox. 20 °C durante la noche (aprox. 16 h). Para el análisis de XRPD, la forma A sólida resultante se aisló por filtración y luego se lavó con heptano frío (150 - 200 mL). El secado durante la noche a 40 °C al vacío produjo 269 g (96.4 % de rendimiento, > 99.9 % de ee/de) del Compuesto 10, Forma A como un sólido cristalino blanco. RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 1.31 (1H, m), 1.71 (1H,q), 1.85 (2H,m), 1.91 (1H,d), 2.20 (2H,d), 2.24 (2H,m), 2.33 (1H,dd), 2.81 (1H,d), 2.84 (1H,s), 2.89 (1H,s), 3.38 (1H, m), 3.49 (1H, m), 4.78 (1H,d), 5.01 (1H, s), 7.12 (2H, t), 7.37 (2H, dd), 8.01 (1H, s), 8.67 (1H, s); LCMS: m/z (ES+), [M+H]⁺ = 348. Para los datos de cristalografía, véase más arriba, por ejemplo, la Tabla 1 y la Figura 1.

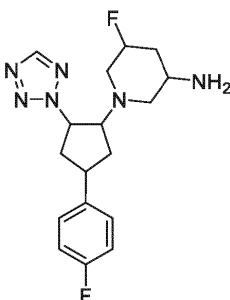
45 Compuesto 11

Etapa 1. (3R,5R)-5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(2H-tetrazol-2-il)ciclopentil)piperidina-3-il-carbamato de tert-butilo

ES 2 944 735 T3

Se añadió azodicarboxilato de di-tert-butilo (437 mg, 1.90 mmol) a F2b (376 mg, 0.95 mmol), 2H-tetrazol (100 mg, 1.42 mmol) y Ph₃P (497 mg, 1.90 mmol) en DCM (30 mL) a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 25°C durante 8 horas y luego se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida C18 (0 al 40 % de MeCN en agua). Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para producir trans-(3R, 5R)-5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(2H-tetrazol-2-il)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (253 mg, 59.5 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 449.5. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 8.78 (s, 1H), 7.38 (dd, 2H), 7.06 (t, 2H), 5.68 - 5.55 (m, 1H), 4.74 (s, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.73 - 3.57 (m, 2H), 3.10 - 2.92 (m, 2H), 2.51 - 2.35 (m, 4H), 2.12 - 1.86 (m, 4H), 1.45 (d, 9H). El producto bruto se purificó mediante HPLC quiral preparativa en una columna Chiralpak IA, eluyendo isocráticamente con EtOH al 20 % en hexanos (DEA al 0.1 %) como eluyente. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se evaporaron a sequedad para producir el isómero 1 (114 mg, 45.1 %, isómero 1, 100 % de ee) y la fracción 2 (18.00 mg, 7.11 %, mezcla (isómero 2 e isómero 3) e isómero 4 (89 mg, 35.2 %, 95.5 % de ee) como un sólido blanco.

Etapa 2. 5-Fluoro-1-[4-(4-Fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 11



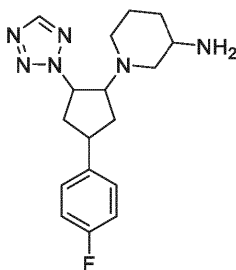
Se añadió TFA (1 mL, 12.98 mmol) al isómero 1 de lo anterior (112 mg, 0.25 mmol) en DCM (4 mL) a 25 °C para eliminar el grupo Boc. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas y luego se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa [(columna XBridge Prep C18 OBD, sílice de 5 µm, 19 mm de diámetro, 150 mm de longitud), usando mezclas decrecientemente polares de agua (que contenían NH₃H₂O al 0.05 %) y MeCN como eluyentes]. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se evaporaron a sequedad para proporcionar el Compuesto 11 (40.0 mg, 46.0 %, isómero 1) como un sólido blanco. Este resultó ser el isómero más potente. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 349.5. DSC: temperatura: 272.86 °C; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.79 (s, 1H), 7.52 - 7.31 (m, 2H), 7.18 - 6.98 (m, 2H), 5.59 (ddd, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.66 (ddt, 2H), 3.20 - 2.94 (m, 3H), 2.59 - 2.26 (m, 4H), 2.28 - 1.86 (m, 3H), 1.62 - 1.23 (m, 1H). RMN de ¹⁹F (300 MHz, CD₃OD) δ -118.88 -118.76 (1F,s), 184.37 -183.48 (1F, s).

Compuesto 12

Etapa 1. (3R)-1-(4-(4 fluorofenil)-2-(2H-tetrazol-2-il)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

Se añadió (E)-diazeno-1,2-dicarboxilato de di-tert-butilo (122 mg, 0.53 mmol) a F2a (200 mg, 0.53 mmol), 2H-tetrazol (37.0 mg, 0.53 mmol) y trifetilfosfina. (139 mg, 0.53 mmol) en DCM (10 mL) a 0 °C durante un período de 5 minutos bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. El disolvente se eliminó a presión reducida. La cromatografía en columna ultrarrápida de alúmina (0 al 70 % de MeCN en agua) proporcionó un sólido blanco (155 mg, 68 %) (LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 431.15; TFA, HPLC Rt = 0.729 minutos). HPLC quiral preparativa [(Columna: CHIRAL ART Cellulose-SB, 2 x 25cm, 5 µm; Fase móvil A: Hexanos (TFA al 0.1 %), Fase móvil B: EtOH; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: A:B = 85:15 en 15 min; 254/220 nm; RT1: 11.2; RT2: 13.32] proporcionó (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(2H-tetrazol-2-il)ciclopentil) piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (70.0 mg, 45.1 %, 100 % de ee) como un aceite incoloro e isómero 2 (70.0 mg, 45.1 %, 100 % de ee) como un aceite incoloro.

Etapa 2. 1-[4-(4-fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 12



Se añadió TFA (96 mg, 0,98 mmol) a (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(2H-tetrazol-2-il)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (70 mg, 0,16 mmol) en DCM (5 mL) a ta. Después de agitar durante 1 hora a temperatura

ES 2 944 735 T3

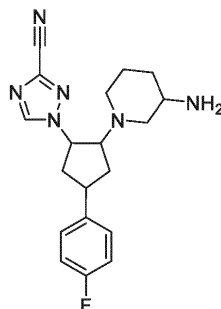
ambiente, se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa [(Columna: XBridge Prep OBD C18 1columna de 9 x 250 mm, 5 µm; Fase móvil A: Agua (NH₃ ac. al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 36 % de B hasta 46 % de B en 7 min; 220/254 nm; Rt: 5.79 min para obtener el Compuesto 12 (25.00 mg, 46.5 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 331.5; TFA, HPLC Rt= 1.129 min; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.17 (1H, dtd), 1.50 - 1.64 (1H, m), 1.73 (1H, ddd), 1.83 - 2.19 (4 H, m), 2.34 - 2.56 (3 H, m), 2.77 - 3.02 (3 H, m), 3.50 - 3.80 (2 H, m), 5.59 (1H,ddd), 7.00 - 7.13 (2 H, m), 7.31 - 7.43 (2 H, m), 8.77 (1H,s). RMN ¹⁹F (282 MHz, CD₃OD) δ -118.65, -76.86 DSC: temperatura: 281.89 °C.

Compuesto 13

Etapa 1. (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

Se añadió azodicarboxilato de di-tert-butilo (426 mg, 1.85 mmol) a F2a (350 mg, 0.92 mmol), 1H-1,2,4-triazol-3-carbonitrilo (104 mg, 1.11 mmol) y Ph₃P (485 mg, 1.85 mmol) en DCM (10 mL) a 25 °C bajo atmósfera de nitrógeno y luego se agitó a 25 °C durante 3 horas. Después de una elaboración estándar, la cromatografía en columna ultrarrápida C18 (0 a 40 % de MeCN en agua (que contenía NH₃OH al 0.3 %)) proporcionó un sólido blanco (350 mg). La TLC preparativa (éter de petróleo:EtOAc = 2:1) proporcionó la fracción 1 (110 mg, 26 %) y la fracción 2 (230 mg, 55 %) como sólidos blancos. La fracción 1 se separó más mediante HPLC quiral preparativa en una columna Chiralpak IA, eluyendo isocráticamente con hexano en EtOH como eluyente para obtener el isómero 1 (3R)-1-(2-(3-ciano-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (31.0 mg, 28 %, 100 % de ee) e isómero 2 (37.0 mg, 34 %, 100 % de ee) como un sólido blanco.

Etapa 2. 1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]-1,2,4-triazol-3-carbonitrilo Compuesto 13



Se añadió TFA (1.0 mL) al isómero 1 (31 mg, 0.07 mmol) obtenido en la etapa 1 en DCM (5 mL) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 h, se concentró y luego se purificó por HPLC preparativa (columna XBridge Prep C18 OBD, sílice de 5 µm, 19 mm de diámetro, 150 mm de longitud), utilizando mezclas decrecientemente polares de agua (que contenían TFA al 0,05 %) y MeCN como eluyentes para obtener el Compuesto 13 (24.3 mg, 46 %), como un sólido blanco; LCMS: m/z (ESI) [M+H]⁺ = 355.5; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.27 (s, 1H), 7.35 (dd, 2H), 7.06 (t, 2H), 5.44 (q, 1H), 4.04 (dt, 1H), 3.72-3.37 (m, 3H), 3.03-2.87 (m, 1H), 2.82 - 2.67 (m, 2H), 2.50 (ddd, 3H), 2.13-1.87 (m, 3H), 1.85-1.48 (m, 2H).

Compuesto 14 y Compuesto 15

Etapa 1. (3R)-1-(4-(4-fluoro-3-metoxifenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una solución de F4 (100 mg, 1.0 eq.) en 3 mL de etanol anhidro se le añadió (R)-piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (115 mg, 1.2 eq.) y carbonato de sodio (101 mg, 2.0 eq.) en un vial sellado. La suspensión se irradió en microondas a 130 °C durante 6 h, luego se filtró y se concentró. Cromatografía en columna sobre (gel de sílice, 0 a 3 % de metanol en DCM) para obtener (3R)-1-(4-(4-fluoro-3-metoxifenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (140 mg, 71 % de rendimiento) como un sólido incoloro. RMN de ¹H (CDCl₃ 400 MHz) δ 6.99 (dd, 1H), 3.86 (dd, 1H), 6.75-6.71 (m, 1H), 4.92 (br s, 1H), 4.27 - 4.21 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.75 (sc, 1H), 3.10 - 3.06 (sc, 2H), 2.88-2.75 (sc, 2H), 2.53 (sc, 2H), 2.41 - 2.35 (sc, 2H), 2.15 - 2.05 (m, 1H), 1.90 - 1.66 (m, 6H), 1.40 (d, 9H).

Etapa 2. (3R)-1-(2-(4-cianofenoxi)-4-(4-fluoro-3-metoxifenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

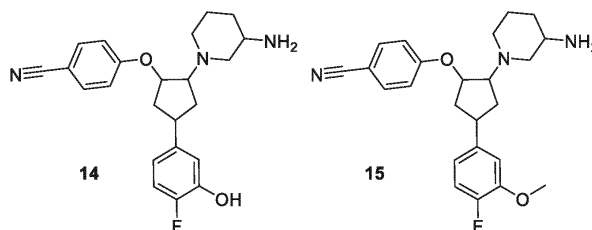
Una solución de (3R)-1-(2-(4-cianofenoxi)-4-(4-fluoro-3-metoxifenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (140 mg, 1.0 eq.) en 3 mL de THF anhidro se agitó y se trató con NaH (35 mg, 2.5 eq.). Después de 0.5 h, se añadió 4-fluorobenzonitrilo (50 mg, 1.2 eq.) a la reacción que luego se agitó durante 18 h a temperatura ambiente y luego a 45 °C durante 18 h. Luego, la mezcla de reacción se vertió en 5 mL de una solución saturada de NH₄Cl, se extrajo con EtOAc (5 mL x 3), se secó y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (DCM/MeOH = 20/1) para producir el compuesto de 4-cianofenoxi deseado (80 mg, 46 % de rendimiento). Purificación usando el sistema preparativo SFC 350 de Waters [columna: AS (250 mm * 30 mm * 5 µm), condición: 25 % IPA en NH₃ ac. a 60 mL/min] proporcionó (3R)-1-(2-(4-cianofenoxi)-4-(4-fluoro-3-metoxifenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (30 mg, 37 % de rendimiento) e isómero 2 (35 mg, 43 % de rendimiento); el isómero 1 muestra LCMS Rt =

0.892 min en cromatografía 5-95AB_1.5 min, MS (ESI) m/z = 510.3 [M+H]⁺. RMN de ¹H (CDCl₃ 400 MHz) δ 7.84 (dd, 1H), 7.60 (dd, 2H) 7.16 - 7.11 (m, 1H), 6.99 - 6.96 (m, 1H), 6.84 - 6.82 (m, 1H), 6.77 - 6.73 (m, 1H), 4.79 - 4.77 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.73 (sc, 1H), 3.25 - 3.19 (m, 2H), 2.69 - 2.63 (m, 2H), 2.47 - 2.19 (m, 4H), 2.04 - 1.95 (m, 1H), 1.88 - 1.82 (m, 2H), 1.68 - 1.64 (m, 3H), 1.43 (d, 9H). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 510.

5

Etapas 3. 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-hidroxi-fenil)ciclopentoxi]benzonitrilo

(Compuesto 14) y 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-metoxifenil)ciclopentoxi]benzonitrilo (Compuesto 15)



10

A una solución del isómero 1 del carbamato descrito anteriormente (30 mg) en DCM (2 mL) se le añadió BBr₃ (0.5 mL) a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. La mezcla se vertió en NH₄Cl ac. (20 mL), pH ajustado = 10 usando NaHCO₃ ac., luego se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio, se concentraron y purificaron mediante HPLC preparativa [(método: columna: Durashell C18 150*25 mm *5 μm, gradiente: 43-73 % de B (A = agua/ amoníaco al 0,05 %, B = acetonitrilo), caudal: 25 mL/min)] para obtener el Compuesto 14 (1.3 mg, 5.6 % de rendimiento) y el Compuesto 15 (1,0 mg, 4.1 % de rendimiento).

15

[0177] Compuesto 14: LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 396. RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 7.65 (d, 2H), 7.15 (d, 2H), 6.93 (dd, 1H), 6.82 (d, 1H), 6.70 - 6.64 (m, 1H), 5.00 - 4.98 (m, 1H), 3.26 - 3.18 (m, 2H), 3.05 - 2.95 (m, 1H), 2.93 - 2.63 (m, 3H), 2.30 - 2.14 (m, 2H), 2.10 - 1.95 (m, 2H), 1.90 - 1.65 (m, 3H), 1.63 - 1.49 (m, 1H), 1.24 - 1.10 (m, 1H).

20

[0178] Compuesto 15: LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 410. RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 7.66 (d, 2H), 7.15 (d, 2H), 7.00 - 6.96 (m, 2H), 6.83 - 6.75 (m, 1H), 4.72 - 4.65 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.42 - 3.35 (m, 1H), 3.30 - 3.23 (m, 1H), 3.05 - 2.95 (m, 1H), 2.90 - 2.65 (m, 3H), 2.35 - 2.15 (m, 2H), 2.14 - 1.95 (m, 2H), 1.91 - 1.68 (m, 3H), 1.62 - 1.49 (m, 1H), 1.25 - 1.13 (m, 1H).

25

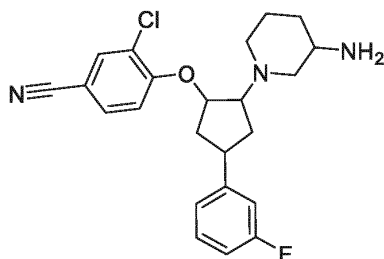
Compuesto 16

30 Etapas 1. (3R)-1-(2-(2-cloro-4-cianofenoxy)-4-(3-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una solución de F3 (580 mg) en THF (8 mL) se le añadió NaH (184 mg, 3.0 eq.) a 0 °C en porciones. Después de agitar a la misma temperatura durante 30 min, se añadió en porciones 3-cloro-4-fluorobenzonitrilo (285 mg, 1.2 eq.) disuelto en THF (2 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se inactivó con NH₄Cl acuoso (20 mL), se diluyó con agua (50 mL), se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 3), se secó sobre Na₂SO₄. La capa orgánica combinada se concentró para obtener el éter deseado (920 mg) como un aceite amarillo. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 514.

35

40 Etapas 2. 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(3-fluorofenil)ciclopentoxi]-3-cloro-benzonitrilo Compuesto 16



40

Una solución del compuesto protegido con Boc anterior (920 mg) en HCl/dioxano (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se concentró para producir un sólido. El sólido se lavó con acetato de etilo (3 x 20 mL), luego se secó para producir un residuo (350 mg, 47 %), que se separó con el sistema preparativo SFC 350 de Waters [columna: AD (250 x 30 mm, 5 μm), condición: etanol al 30 %/amoníaco: caudal: 60 mL/min] para obtener el Compuesto 16 isómero 1 (95.7 mg) y un segundo isómero 2 del mismo compuesto (125.1 mg).

45

Isómero 1 (Compuesto 16): LCMS: m/z (ESI) [M+H]⁺ = 414. Isómero más potente: RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 7.81 - 7.80 (1H, m), 7.68 - 7.65 (1H, m), 7.31 - 7.28 (2H, m), 7.15 - 6.94 (3H, m), 5.06 - 4.92 (1H, m), 3.40 - 3.25 (2H, m), 3.05 - 2.95 (1H, m), 2.92 - 2.72 (2H, m), 2.45 - 2.36 (1H, m), 2.32 - 2.00 (4H, m), 1.90 - 1.51 (4H, m), 1.24 - 1.19 (1H, m).

50

Isómero 2: LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 414. RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 7.83 - 7.82 (1H, m), 7.68 - 7.67 (1H, m), 7.32 - 7.27 (3H, m), 7.05 - 7.01 (2H, m), 5.05 - 4.97 (1H, m), 3.43 - 3.35 (2H, m), 3.10 - 2.95 (1H, m), 2.95 - 2.75 (2H, m), 2.47 - 2.39 (1H, m), 2.35 - 2.05 (4H, m), 1.95 - 1.56 (4H, m), 1.28 - 1.22 (1H, m).

5

Compuesto 17

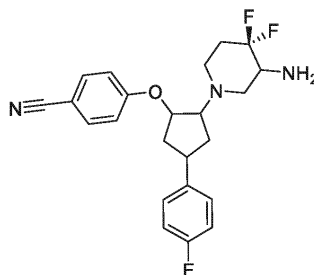
Etapa 1. 1-(2-(4-cianofenoxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-4,4-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

10 A una solución de 4,4-difluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-hidroxiciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo F2c (250 mg, 1.0 eq.), 4-hidroxibenzonitrilo (86 mg, 1.2 eq.) y Ph₃P (470 mg, 3.0 eq.) en THF anhidro (10 mL) se le añadió DIAD (485 mg, 4.0 eq.) a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 14 - 22 °C durante 20 h. Después de la elaboración estándar, la cromatografía ultrarrápida (éter de petróleo/EA = 90/10 a 80/20) proporcionó la mezcla de productos isoméricos (220 mg, 71 % de rendimiento) como un aceite espeso de color amarillo. La separación mediante el sistema preparativo SFC 350 de Waters (columna: OJ 250 mm*30 mm*5 μm, condición: base-metanol, caudal: 60 mL/min) proporcionó el isómero 1 puro (20 mg, pico 1) y el isómero 2 (15 mg, pico 2) y una mezcla de dos isómeros (50 mg, pico 3+4) que se separó posteriormente mediante el sistema preparativo SFC 350 de Waters (columna: IC 250 mm x 30 mm x 10 μm, condición: base-metanol, caudal: 70 mL/min) para obtener el isómero 3 (15 mg, pico 1 en la segunda separación) y el isómero 4 (10 mg, pico 2 en la segunda separación). Todos los isómeros se obtuvieron como aceites incoloros. LCMS para el isómero 1: m/z (ESI) [M+H]⁺ = 516.

15

20

Etapa 2. 4-[2-(3-omino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]benzonitrilo Compuesto 17



25

30

Se añadió TFA (1 mL) a una solución del isómero 1 anterior (20 mg, 1.0 eq.) en diclorometano anhidro (5 mL). La mezcla resultante se agitó a 16-23 °C durante 1 hora. La mezcla se vertió en solución saturada de NaHCO₃ (50 mL), se extrajo con DCM (30 mL x 3), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa (columna: Durashell 150 * 25mm * 5μm, gradiente: 70 % - 95 % de B (A= amoníaco al 0.05 %/agua, B = metanol, caudal: 25 mL/min) para obtener el Compuesto 17 (2.9 mg, 18 % de rendimiento) como un sólido blanco después de la liofilización LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 416. RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 7.68 (d, 2H), 7.33 - 7.29 (dd, 2H), 7.12 (d, 2H), 7.03 (t, 2H), 4.90 - 4.85 (m, 1H), 3.35 - 3.32 (m, 1H), 3.30 - 3.28 (m, 1H), 3.15 - 3.05 (m, 1H), 2.98 - 2.87 (m, 1H), 2.82 - 2.71 (m, 1H), 2.66 - 2.55 (m, 1H), 2.52 - 2.32 (m, 2H), 2.27 - 2.08 (m, 3H), 2.07 - 1.92 (m, 1H), 1.81 - 1.75 (m, 1H).

35

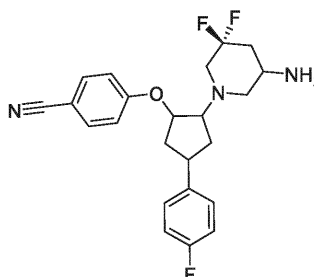
Compuesto 18

Etapa 1. (3R)-1-(2-(4-cianofenoxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5,5-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

40 A una mezcla de PPh₃ (569 mg, 3.0 eq.) y 4-hidroxibenzonitrilo (129 mg, 1.5 eq.) se le añadió una solución de F2d (290 mg, 1.0 eq.) y DIAD (439 mg, 3.0 eq.) en 3 mL de THF anhidro bajo atmósfera de nitrógeno. La solución amarilla se agitó a 17-27 °C durante 18 h. La solución se concentró y se purificó por columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc, 0 al 20 % de EA), se lavó con una solución saturada de carbonato de potasio (3 x 10 mL) y se concentró para producir (3R)-1-(2-(4-cianofenoxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5,5-difluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (328 mg, 88 % de rendimiento) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 516.

45

Etapa 2. 4-[2-(5-amino-3,3-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]benzonitrilo Compuesto 18



A una solución del compuesto anterior protegido con Boc (328 mg, 10 eq.) en 5 mL de DCM se le añadió 2 mL de TFA. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y luego se concentró. El residuo se diluyó con HCl ac. y se extrajo con éter de petróleo/EtOAc (1:1) (20 mL x 3) para eliminar las impurezas. La capa acuosa se alcalinizó con bicarbonato de sodio y se extrajo con diclorometano (10 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y concentraron para proporcionar un sólido amarillo (50 mg, 19 % de rendimiento) que se separó mediante el sistema preparativo SFC Berger MG-II [ChiralPak AD 250 x 30 mm I.D., 5 µm; Fase móvil: CO₂/MeOH (NH₃ ac. al 0,1 %) = 70/30 a 60 mL/min] para proporcionar el Compuesto 18 (5.2 mg, 10 %) como un sólido blanco. También se aisló un segundo isómero, datos no informados en este documento.

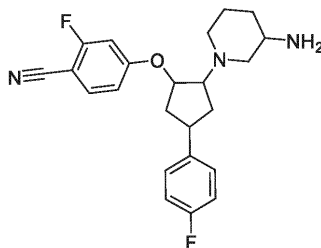
El compuesto 18 mostró: LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 416. RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 7.68 (d, 2H), 7.32 (dd, 2H), 7.15 (d, 2H), 7.04 (t, 2H), 4.89 - 4.84 (m, 1H), 3.38 - 3.36 (m, 1H), 3.18 (sc, 1H), 2.96 - 2.92 (m, 2H), 2.79 - 2.73 (m, 1H), 2.39 - 2.15 (m, 6H), 1.84 - 1.78 (m, 2H).

Compuesto 19

Etapa 1. (3R)-1-(2-(4-ciano-3-fluorofenoxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una solución de F2a (200 mg), 2-fluoro-4-hidroxibenzonitrilo (108 mg, 1.5 eq.) y PPh₃ (272 mg, 2.0 eq.) en THF (4 mL) se le añadió DIAD (180 mg, 2.0 eq.) en THF (1 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 3 días. La mezcla se diluyó con agua (20 mL), se extrajo con EA (2 x 20 mL). Las capas orgánicas se secaron sobre sodio, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/EA = 5/1) para obtener el producto (200 mg, 76 % de rendimiento), que se separó mediante el sistema preparativo SFC 350 de Waters [columna: AD (300 mm x 50 mm, 10 µm), condición: IPA al 35 % + NH₃ ac. a 80 mL/min] para obtener el isómero 1 (77 mg, 38 % de rendimiento, Rt = 8.21 min) y el isómero 2 (76 mg, 38 % de rendimiento, Rt = 9.64 min). LCMS para ambos isómeros, m/z (ESI), [M+Na]⁺ = 520.

Etapa 2. 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]-2-fluoro-benzonitrilo Compuesto 19



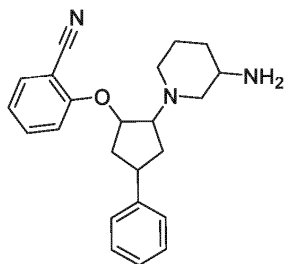
Una solución del isómero 1 obtenido directamente arriba (77 mg) en DCM (2 mL) y TFA (1 mL) se agitó a 27 °C durante 30 min. La mezcla se concentró y purificó por HPLC preparativa (método: columna: Waters Xbridge C18 150 * 20mm * 5µm, gradiente: 65-95 % de B (A = agua/amoniaco al 0.05 %, B = metanol), caudal: 25 mL/min) para obtener el Compuesto 19 (13.5 mg, 20 % de rendimiento). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 398. RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 7.65 (t, 1H), 7.32 - 7.25 (m, 2H), 7.07 - 6.98 (m, 3H), 6.94 (dd, 1H), 4.84 - 4.80 (m, 1H), 3.30 - 3.24 (m, 1H), 3.20 - 3.14 (m, 1H), 3.03 - 2.94 (m, 1H), 2.89 - 2.73 (m, 2H), 2.38 - 2.32 (m, 1H), 2.25 - 2.07 (m, 3H), 1.99 (t, 1H), 1.92 - 1.84 (m, 1H), 1.81 - 1.66 (m, 2H), 1.64 - 1.48 (m, 1H), 1.21 - 1.11 (m, 1H).

Compuesto 20

Etapa 1. (3R)-1-(2-(2-cianofenoxi)-4-fenilciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una solución agitada de F1 (400 mg) en DMF (3 mL) se le añadió NaH (133 mg, 3.0 eq.) en porciones a 0 °C, luego, después de 30 min, 2-fluorobenzonitrilo (148 mg, 1.1 eq.) disuelto en DMF (2 mL) se introdujo gota a gota y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la elaboración estándar, la reacción se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo/EtOAc 1:1) para obtener (3R)-1-(2-(2-cianofenoxi)-4-fenilciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo bruto (210 mg, 41 % de rendimiento). LCMS: m/z (ESI) [M+H]⁺ = 462.

Etapa 2. 2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi]benzonitrilo Compuesto 20



A una solución agitada del producto del experimento anterior (210 mg) en diclorometano (3 mL) se le añadió HCl/dioxano (2 mL, 4 M) a ta. Luego, la mezcla se agitó a ta durante 2 h, luego se extrajo con diclorometano (15 mL x 3) y luego la fase acuosa se ajustó a pH 8 agregando una solución saturada de NaHCO₃. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (20 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron para obtener 2-(2-((R)-3-aminopiperidin-1-yl)-4-fenilciclopentil)benzonitrilo bruto (93 mg, 56 % de rendimiento). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 362. Purificación usando el sistema preparativo SFC 350 de Waters en este producto bruto [columna: OJ (250 nm * 30nm * 5µm), condición: etanol al 30 %/amoníaco; caudal 60 mL/min] proporcionó el Compuesto 20 (23.2 mg, isómero 1) y un segundo isómero menos potente (10.5 mg, isómero 2).

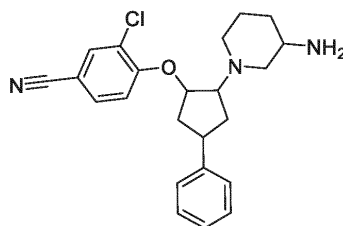
Compuesto 20 (isómero 1): LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 361. RMN de ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 7.64 - 7.60 (m, 2H), 7.30 - 7.28 (m, 4H), 7.20 - 7.18 (m, 2H), 7.10 - 7.06 (m, 1H), 3.38 - 3.35 (m, 1H), 3.35 - 3.33 (m, 1H), 2.86 - 2.81 (m, 3H), 2.40 - 1.60 (m, 9H), 1.22 - 1.16 (m, 1H). Isómero 2 LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 362. RMN de ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 7.64 - 7.60 (m, 2H), 7.30 - 7.28 (m, 4H), 7.21 - 7.17 (m, 2H), 7.10 - 7.07 (m, 1H), 3.37 - 3.34 (m, 1H), 3.25 - 3.23 (m, 1H), 3.01 - 2.81 (m, 3H), 2.41 - 1.63 (m, 9H), 1.21 - 1.13 (m, 1H).

Compuesto 21

1. (3R)-1-(2-(2-cloro-4-cianofenoxy)-4-fenilciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una mezcla de NaH (1.1 g, 2.5 eq.) en THF anhidro (20 mL) se le añadió gota a gota una solución de F1 (4.0 g, 1.0 eq., 11.1 mmol) en THF (30 mL) a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 0.5 h, se añadió a la reacción una solución de 3-cloro-4-fluorobenzonitrilo (2.0 g, 1.2 eq.) en THF (10 mL). Después de agitar a 17-21 °C durante otras 18 h, la mezcla se vertió en agua (200 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y concentraron. Cromatografía en columna sobre gel de sílice (0 a 30 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para obtener (3R)-1-(2-(2-cloro-4-cianofenoxy)-4-fenilciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (460 mg, 8.3 % de rendimiento) y una mezcla de otros productos. El isómero 1 fue el producto menos polar observado por TLC. RMN de ¹H (CDCl₃ 400MHz) δ 1.45 (9H, s), 1.61 - 1.85 (4H, m), 2.05 - 2.46 (4H, m), 2.48 (2H, br s), 2.73 (1H, br s), 3.15 - 3.25 (1H, m), 3.34 - 3.42 (1H, m), 3.75 (1H, br s), 4.75 (1H, br s), 4.85 (1H, br s), 7.08 - 7.15 (1H, m), 7.23 - 7.26 (3H, m), 7.29 - 7.32 (2H, m), 7.52 - 7.55 (1H, m), 7.66 - 7.67 (1H, m).

Etapa 2. 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi]-3-cloro-benzonitrilo Compuesto 21



Se añadió TFA (3 mL) a una solución del isómero 1 (610 mg, 1.0 eq., 1.23 mmol) obtenido en el experimento anterior en diclorometano (5 mL). La solución resultante se agitó durante 0.5 horas a 7-17 °C. Luego, la solución se concentró, se diluyó con agua (10 mL), se basificó con amoníaco y se extrajo con DCM (15 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y concentraron. El residuo se diluyó con agua y luego se secó (liofilización) para obtener el producto final Compuesto 21 (348.6 mg, 71 % de rendimiento) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 1.633 en cromatografía de 4.0 min, LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 396. RMN de ¹H (CD₃OD 400 MHz) δ 1.13 - 1.26 (1H, m), 1.53 - 1.66 (1H, m), 1.70 - 1.77 (1H, m), 1.77 - 1.85 (1H, m), 1.86 - 1.94 (1H, m), 2.01 - 2.07 (1H, m), 2.09 - 2.17 (1H, m), 2.18 - 2.29 (2H, m), 2.36 - 2.45 (1H, m), 2.76 - 2.83 (1H, m), 2.84 - 2.92 (1H, m), 2.98 - 3.05 (1H, m), 3.22 - 3.39 (2H, m), 4.91 - 4.95 (1H, m), 7.16 - 7.22 (1H, m), 7.24 - 7.33 (5H, m), 7.66 (1H, dd), 7.80 (1H, d).

Compuesto 22

Etapa 1. (3R,5R)-1-(2-(6-cloro-4-metilpiridazin-3-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

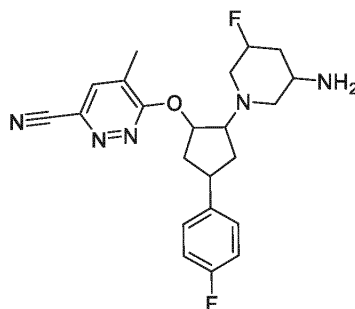
ES 2 944 735 T3

Se añadió F2b (950 mg, 2.40 mmol) a NaH (115 mg, 4.79 mmol), 3,6-dicloro-4-metilpiridazina (586 mg, 3.59 mmol) en DMF (8 mL) enfriado a 0 °C durante un período de 5 minutos bajo atmósfera de nitrógeno. La solución resultante se agitó a ta por 2 horas. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:EtOAc = 2:1) para obtener el producto como un aceite amarillo (450 mg, 35.9 %); LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 523; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.89 - 7.58 (m, 1H), 7.35 (t, 2H), 7.11 (td, 2H), 6.79 (dd, 1H), 5.48 (t, 1H), 4.85 (d, 1H), 3.67 (s, 1H), 3.34 (s, 2H), 3.17 (d, 1H), 2.51 (m, 4H), 2.36 - 2.08 (m, 4H), 2.13 - 1.79 (m, 2H), 1.76 - 1.47 (m, 2H), 1.43 - 1.26 (m, 21H).

Etapa 2. (3R,5R)-1-(2-(6-ciano-4-metilpiridazin-3-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

El compuesto 6-cloro-4-metilpiridazin-3-iloxi (150 mg, 0.29 mmol) obtenido anteriormente se añadió a cianuro de zinc (67.3 mg, 0.57 mmol) y 2-di-t-butilfosfino-2',4',6'-tri-i-propil-1,1'-bifenilo (18.27 mg, 0.04 mmol) en THF (5 mL) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 1 hora y luego se evaporó. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo: EtOAc = 2:1), para obtener el producto bruto (120 mg, 81 %) como un aceite amarillo. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 514; básico, HPLC Rt = 1.371 min. HPLC quirál preparativa [CHIRALPAK IE, 2 cm × 25 cm, 5 μm; Fase móvil A: Hexanos (DE al 0.1 %)-HPLC, Fase móvil B: EtOH-HPLC; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: A:B = 70:30 en 31 min; 220/254 nm] proporcionó 8 fracciones cada una con un ee de > 98 %; Fracción 1 (RT1: 9.37 minutos, 10.00 mg, 6.67 %) como un sólido blanco. Isómero 2 (RT2: 12.16 minutos; 15.00 mg, 10.00 %) como un sólido blanco. Isómero 3 (RT3: 14.92 minutos; 10.00 mg, 6.67 %) como un sólido blanco. Isómero 4 (RT4: 17.38 minutos; 10.00 mg, 6.67 %) como un sólido blanco. Isómero 5 (RT5: 18.6 minutos; 5.00 mg, 3.33 %) como un sólido blanco. Isómero 6 (RT6: 21.8 minutos; 20.00 mg, 13.33 %) como un sólido blanco. Isómero 7 (RT7: 23.6 minutos; 15.00 mg, 10.00 %) como un sólido blanco. Isómero 8 (RT8: 28 minutos; 10.00 mg, 6.67 %) como un sólido blanco.

Etapa 3. 6-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]-5-metil-piridazin-3-carbonitrilo Compuesto 22



Se añadió TFA (0.1 mL, 0.02 mmol) al isómero 4 obtenido anteriormente (8 mg, 0.02 mmol) en DCM (1 mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla se ajustó a pH = 8 con solución NH₃ ac. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa [(columna XBridge Prep OBD C18 30 × 150 mm 5 μm; fase móvil A: agua (NH₃ ac. al 0.05 %), fase móvil B: MeCN; caudal: 55 mL/min; gradiente: 35 % de B hasta 55 % de B en 7 min, 254/220 nm, Rt: 6.15 min)]. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se evaporaron hasta sequedad para proporcionar el Compuesto 22 (4.40 mg, 68.3 %) como un sólido blanco, que demostró ser un potente isómero. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 414; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7.89 (s, 1H), 7.30 - 7.30 (m, 2H), 7.07 - 7.0 (m, 2H), 5.82 (br s, 1H), 5.02 (br s, 1H), 3.58 (CC, 2H), 3.34 (m, 1H), 3.18 (m, 2H), 2.90 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 2.38 - 2.13 (m, 6H), 1.85 (m, 2H). RMN de ¹⁹F (282 MHz, CD₃OD) δ -118.834, -185.169.

Compuesto 23

Etapa 1. ((3R)-1-(2-((4-cloropiridazin-3-il)oxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato

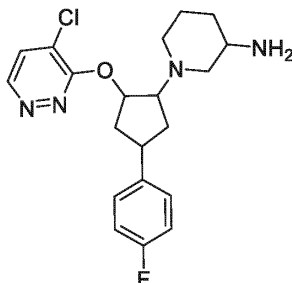
Se añadió F2 (500 mg, 1.32 mmol) a PPh₃ (520 mg, 1.98 mmol) y 4-cloropiridazin-3(2H)-ona (207 mg, 1.59 mmol) en DCM (8 mL) a 0 °C durante un período de 5 minutos bajo atmósfera de nitrógeno. A continuación, se introdujo gota a gota DEAD (0.314 mL, 1.98 mmol). La solución resultante se dejó calentar a ta y se agitó durante 2 horas. A continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice con un gradiente de elución de 0 a 50 % de EtOAc en éter de petróleo para producir un aceite amarillo (1000.0 mg, 154 %). El producto bruto se purificó mediante el sistema preparativo SFC 350 de Waters [(Columna: (R,R) WHELK-01 5/100 Kromasil, 2.11 cm × 25 cm (5 μm)); Fase móvil A: CO₂: 65 %, Fase móvil B: EtOH-HPLC: 35 %; Caudal: 45 mL/min; 220 nm; RT1: 4.06; RT2: 4.85]] para producir ((3R)-1-(2-((4-cloropiridazin-3-il)oxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato de tert-butilo, isómero 1 (220 mg, 36.7 %, 100 % de ee) como un sólido amarillo y el isómero 2 (240 mg, 40.0 %, 96.1 % de ee) como un sólido amarillo.

Isómero 1 LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 491; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.40 - 7.31 (m, 2H), 7.17 - 7.07 (m, 2H), 6.59 (d, 1H), 3.47 (dq, 1H), 3.33 (s, 3H), 3.17 (d, 1H), 2.75 (d, 1H), 2.62 (s, 1H), 2.25 - 2.14 (m, 2H), 2.03 (d, 2H), 1.94 (d, 2H), 1.82 - 1.71 (m, 1H), 1.62 (s, 1H), 1.53 (s, 1H), 1.37 (s, 9H).

ES 2 944 735 T3

Isómero 2 LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 491; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.40 - 7.32 (m, 1H), 7.11 (t, 2H), 6.60 (d, 1H), 3.44 (d3H), 3.17 (m, 1H), 2.52 (s, 5H), 2.36 - 2.14 (m, 2H), 2.00 (s, 1H), 1.89 (s, 1H), 1.84 - 1.70 (m, 2H), 1.67 (d, 1H), 1.55 (s, 1H), 1.36 (s, 9H).

5 Etapa 2. 1-[2-(4-cloropiridazin-3-il)oxi-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 23



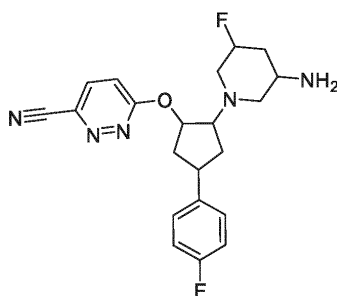
10 Se añadió TFA (1 mL, 0.49 mmol) a una solución del isómero 2 (240 mg, 0.49 mmol) en DCM (10 mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se evaporó el disolvente. La mezcla se ajustó a pH = 8 con NH₃.H₂O. HPLC preparativa [(Columna XBridge Prep OBD C18 30 × 150 mm 5 μm; Fase móvil A: agua (NH₃ ac. al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 55 mL/min; Gradiente: 35 % de B hasta 40 % de B en 7 min; 254/220 nm; Rt: 5.53 min) proporcionó el Compuesto 23 (128 mg, 67.0 %) como un sólido blanco, que resultó ser el isómero más potente. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 391; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.00 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.38 - 7.24 (m, 2H), 7.10 - 6.95 (m, 2H), 5.71 (ddd, 1H), 3.56 (dt, 2H), 2.98 (d, 1H), 2.81 (t, 2H), 2.47 - 2.00 (m, 4H), 1.94 - 1.34 (m, 5H), 1.11 (d, 1H). RMN de ¹⁹F (282 MHz, CD₃OD) δ -119.158.

Compuesto 24

20 Etapa 1. (3R,5R)-1-(2-(6-cianopiridazin-3-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

25 Una solución de F2b (26 g, 65.58 mmol) en THF (300 mL) se enfrió a 0 °C, luego se trató con hidruro de sodio (4.72 g, 196.73 mmol) y, después de 10 min, 6-cloropiridazin-3-carbonitrilo (10.98 g, 78.69 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 30 minutos y a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de la elaboración estándar, el producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida C18 (0 al 40 % de MeCN en agua (TFA al 0.5 %)). Se obtuvo (3R, 5R)-1-(2-(6-cianopiridazin-3-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)-5-fluoropiperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (20.00 g, 61.1 %) como un sólido blanco. El producto se purificó adicionalmente mediante el sistema preparativo SFC 350 de Waters [(Columna: Lux 5μm Cellulose-4, 5*25cm, 5μm; Fase móvil A: CO₂: 60 %, Fase móvil B: MeOH: 40 %; Caudal: 150 mL/min; 230 nm; RT1: 6.52; RT2: 7.27)] para proporcionar el isómero 1: (7.00 g, 96.8 % de ee) y el isómero 2: (10.00 g, 95.5 % de ee) como sólidos blancos. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 500.

Etapa 2. 6-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]piridazin-3-carbonitrilo Compuesto 24



35 Se agregaron gota a gota dimetilsulfano (30 mL, 391.94 mmol) y TFA (30 mL, 392.03 mmol) en lotes al isómero 2 obtenido en el experimento anterior (10 g, 20.02 mmol) en DCM (100 mL) a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 h y luego se eliminó el disolvente a presión reducida. La cromatografía ultrarrápida C18 (10 al 30 % de MeCN en agua (TFA al 0.05 %)) proporcionó el Compuesto 24 (9.00 g, 82 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 400; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.03 (d, 1H), 7.46 - 7.23 (m, 3H), 7.14 - 6.97 (m, 2H), 5.87 (d, 1H), 5.07 (s, 1H), 3.65 (s, 2H), 3.51 - 3.36 (m, 1H), 3.31 (d, 2H), 3.08 - 2.83 (m, 1H), 2.73 (d, 1H), 2.50 (s, 1H), 2.29 (tt, 3H), 1.93 (dq, 2H). RMN de ¹⁹F (376 MHz, CD₃OD) δ -77.3, -118.76, -185.06.

45 Compuesto 25

Etapa 1. (3R)-1-(2-(5-cloropiridazin-3-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

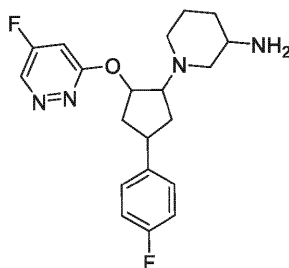
ES 2 944 735 T3

Se añadió DTAD (487 mg, 2.11 mmol) a 5-cloropiridazin-3(2H)-ona (207 mg, 1.59 mmol), F2a (400 mg, 1.06 mmol) y PPh₃ (554 mg, 2.11 mmol) en DCM (20 mL). La mezcla resultante se agitó a 30 °C durante 2 horas y luego se eliminó el disolvente a presión reducida. La cromatografía en columna ultrarrápida C18 (40 a 42 % de MeCN en agua (modificado con NH₃ ac. al 0.1 %) proporcionó el producto deseado (450 mg, 87 %) como un sólido amarillo. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 492; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.20 - 1.32 (m, 1H), 1.44 (d, 10H), 1.49 (d, 1H), 1.62 - 1.94 (m, 4H), 1.95 - 2.17 (m, 3H), 2.16 - 2.46 (m, 2H), 2.68 - 2.98 (m, 2H), 3.55 (dt, 3H), 5.64 (tt, 1H), 6.97 - 7.15 (m, 3H), 7.26 - 7.37 (m, 2H), 8.12 (t, 1H).

Etapa 2. (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(5-fluoropiridazin-3-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

Se añadió KF (237 mg, 4.07 mmol) al compuesto de piperidin-3-il-carbamato anterior (400 mg, 0.81 mmol) en DMSO (10 mL). La mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 72 h, luego se diluyó con DCM (20 mL) y se lavó con agua (25 mL x 3). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para obtener el producto bruto. HPLC preparativa [Columna XBridge Prep OBD C18 19*250 mm, 5 µm; Fase móvil A: Agua (NH₃ ac. al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 66 % de B hasta 66 % de B en 8 min; 220/254nm; Rt: 6.57 - 7.18 min] proporcionó (3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(5-fluoropiridazin-3-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (60.0 mg, 15.52 %) como un sólido amarillo. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 475.

Etapa 3. 1-[4-(4-fluorofenil)-2-(5-fluoropiridazin-3-il)oxi-ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 25



Se añadió TFA (3 mL, 0.13 mmol) al carbamato obtenido anteriormente (60 mg, 0.13 mmol) en DCM (15 mL). La solución resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas y el disolvente se eliminó a presión reducida. HPLC preparativa [Columna XSelect CSH Prep C18 OBD, 5 µm, 19*150 mm; Fase móvil A: Agua (TFA al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 25 mL/min; Gradiente: 15 % de B hasta 25 % de B en 7 min; 254/220nm; Rt: 4.42 min] proporcionó el Compuesto 25, (R)-1-((1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(5-fluoropiridazin-3-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-amina, (20.00 mg, 42.2 %) como un aceite incoloro. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 375; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.23 (d, 1H), 7.30 - 7.34 (m, 2H), 7.01 - 7.07 (m, 2H), 6.77 (d, 1H), 5.86 (s, 1H), 4.11 (s, 1H), 3.08 - 3.58 (m, 4H), 2.89 - 2.91 (m, 2H), 2.59 (s, 1H), 2.32 - 2.36 (m, 1H), 2.17 - 2.27 (m, 1H), 1.85 - 2.03 (m, 3H), 1.79 - 1.82 (m, 1H), 1.63 - 1.66 (m, 1H). RMN de ¹⁹F (300 MHz, CD₃OD) δ -77.16, -111.97.

Compuesto 26

Etapa 1. (3R)-1-(2-(5-cianopiridin-2-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

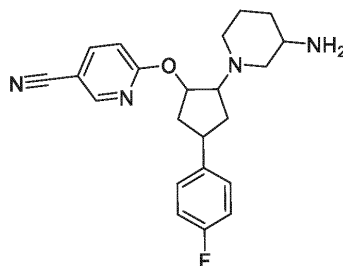
A una mezcla de F2a (360 mg, 0.95 mmol), 6-hidroxinicotinonitrilo (114 mg, 0.95 mmol), PPh₃ (499 mg, 1.90 mmol) en THF (25 mL), se le añadió DTAD (438 mg, 1.90 mmol). Después de agitar durante 16 h, se evaporó el disolvente. El residuo se purificó por TLC preparativa (EtOAc:éter de petróleo = 1:2), para proporcionar el producto de tert-butilo (280 mg, 61.3 %) como un aceite amarillo. La HPLC preparativa proporcionó la fracción 1 (120 mg, 33.8 %) como un sólido blanco y la fracción 2 (70.0 mg, 19.69 %) como un sólido blanco.

Fracción 1: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8.67 - 8.76, 8.13 (1H,s), 7.61 - 7.71 (1H, m), 7.28 - 7.40 (2 H, m), 7.12 (2 H, t), 6.61 (1H, s), 6.48 (1H, dd), 5.33 (1H, s), 3.54 (2H, d), 3.26 (2H, s), 2.77 (1H, s), 2.15 (4H, s), 1.61 (7H, s), 1.35 (9H, s), 1.20 (1H, m). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 481.

Fracción 2: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1.33 (9 H, d), 1.75 (4 H, s), 2.13 (3 H, s), 5.69 (1H,s), 6.99 - 7.19 (3H, m), 7.29 - 7.40 (2H, m), 8.17 (2H, d), 8.72 (1H, s); LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 481.

Etapa 2. 6-(2-((R)-3-aminopiperidin-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentiloxi)nicotinonitrilo Compuesto 26

ES 2 944 735 T3



Se añadió TFA (0.15 mL, 1.95 mmol) a una solución de la fracción 2 anterior (70 mg, 0.15 mmol) en DCM (15 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 hora y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa, [agua (que contenía NH₃ al 0.05 %) y gradiente de MeCN] para producir un sólido blanco (50.0 mg, 90 %), que se purificó más mediante HPLC quiral preparativa para producir 6-(2-((R)-3-aminopiperidin-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)nicotinonitrilo, isómero 1, Compuesto 26 (22.70 mg, 32.4 %) como un sólido blanco e isómero 2 (15.50 mg, 22.14 %). El Compuesto 26 mostró: RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.24 (1H,t), 1.49 - 1.81 (3 H, m), 1.89 (1H,dq), 2.02 - 2.29 (4 H, m), 2.34 - 2.49 (1H, m), 2.79 - 2.93 (2H, m), 3.01 (1H, d), 3.11 - 3.41 (2H, m), 5.60 (1H, ddd), 6.88 - 7.09 (3 H, m), 7.22 - 7.36 (2 H, m), 7.98 (1H,dd), 8.56 (1H,dd). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 381.

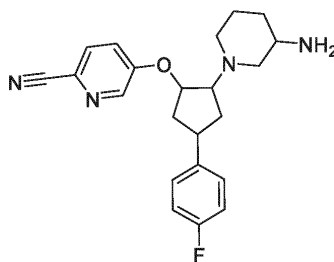
Isómero 2: RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.17 (1H, td), 1.53 - 2.28 (9 H, m), 2.32 - 2.47 (1H, m), 2.78 - 2.93 (2 H, m), 3.01 (1H, d), 3.09 - 3.39 (1H, m), 5.58 (1H,d), 6.89 - 7.07 (3 H, m), 7.28 (2 H, dd), 7.97 (1H, dt), 8.55 (1H, d). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 381.

15
Compuesto 27

Etapa 1. (3R)-1-(2-(6-cianopiridin-3-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

20 F2a (226.8 mg, 0.60 mmol), 5-hidroxipicolinonitrilo (86 mg, 0.72 mmol) y Ph₃P (393 mg, 1.50 mmol) en DCM (10 mL) se hicieron reaccionar a 0 °C con DTAD (276 mg, 1.20 mmol). La reacción se dejó calentar a ta durante 2 h. Después de una elaboración estándar, la cromatografía en columna ultrarrápida C18 (0 al 45 % de MeCN en agua (NH₃ ac. 0.1 M)) proporcionó (3R)-1-(2-(6-cianopiridin-3-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo (160 mg, 55.6 %) como un sólido rojo claro. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 481.30. HPLC quiral preparativa [(Columna: Chiralpak IA, 2*25 cm, 5 μm; Fase móvil: Fase A: Hexanos-HPLC; Fase B: EtOH-HPLC; Gradiente; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: A:B = 90:10 en 12.5 min; 254/220 nm; RT1: 11.13; RT2: 14.44)] proporcionó dos fracciones que contenían el isómero 1 (30 mg, 0.06 mmol) y el isómero 2 (30 mg, 0.06 mmol) como sólidos blancos.

30 Etapa 2. 6-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]piridin-3-carbonitrilo Compuesto 27



A una solución agitada del isómero 1 (30 mg, 0.06 mmol) en DCM (2 mL) se le añadió TFA (0.66 mL) a temperatura ambiente durante 16 h. La purificación por HPLC preparativa (columna XBridge Prep C18 OBD, sílice de 5 μ, 19 mm de diámetro, 150 mm de longitud, agua (que contenía TFA al 0.05 %) / gradiente de MeCN) proporcionó el Compuesto 27 (24.00 mg, 90 %) como un sólido blanco que demostró ser el isómero más potente. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 381; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.43 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.32 (dd, 2H), 7.16 - 6.97 (m, 2H), 4.92 (s, 2H), 3.38 (s, 2H), 2.93 (d, 1H), 2.61 (d, 3H), 2.38 (dt, 1H), 2.21 (t, 2H), 2.05 - 1.76 (m, 3H), 1.77 - 1.48 (m, 2H).

40
Compuesto 28

Etapa 1. 1-((1R)-4-(4-fluorofenil)-2-(piridazin-3-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

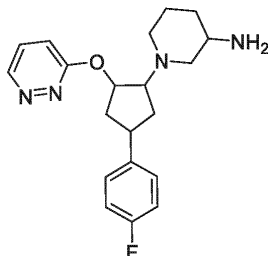
45 DIAD (427 mg, 2.11 mmol), PPh₃ (554 mg, 2.11 mmol), piridazin-3(2H)-ona (152 mg, 1.59 mmol) y F2a (400 mg, 1.06 mmol) en DCM (10 mL) se hicieron reaccionar en condiciones estándar de Mitsunobu. Después de 2 h a ta, el disolvente se eliminó a presión reducida. La cromatografía en columna ultrarrápida C18 (45 a 50 % de MeCN en agua (modificado con NH₃ ac. al 0.1) proporcionó ((3R)-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(piridazin-3-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-il) carbamato de tert-butilo (400 mg, 83 %) como un sólido amarillo LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 457, RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.17 - 1.33 (m, 1H), 1.45 (d, 9H), 1.51 - 2.14 (m, 4H), 2.18 - 2.50 (m, 2H), 2.66 - 2.90 (m, 1H), 2.94 (d,

50

ES 2 944 735 T3

1H), 3.38 (s, 2H), 3.49 - 3.66 (m, 3H), 5.64 - 5.79 (m, 1H), 6.93 - 7.12 (m, 3H), 7.26 - 7.49 (m, 3H), 8.09 (ddd, 1H). La HPLC quiral [Chiralpak IB, eluyendo isocráticamente con IPA al 40 % en hexanos (modificado con DEA al 0.1 %) como eluyente] proporcionó 1-((1R)-4-(4-fluorofenil)-2-(piridazin-3-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (180 mg, 45.0 %, 99.5 % de ee) como un sólido amarillo. LCMS (para ambos isómeros) m/z (ESI), [M+H]⁺ = 457.

Etapa 2. 1-[4-(4-fluorofenil)-2-piridazin-3-iloxi-ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 28



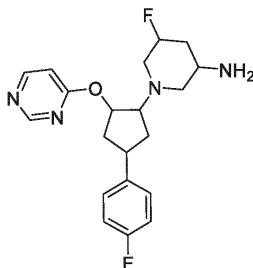
Se añadió TFA (2 mL, 25.96 mmol) al isómero 1 obtenido anteriormente (180 mg, 0.39 mmol) en DCM (10 mL). La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas. A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida y se purificó el producto bruto mediante HPLC preparativa [columna XSelect CSH OBD 30×150 mm, 5 µm; Fase móvil A: Agua (TFA al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 60 mL/min; Gradiente: 11 % de B hasta 21 % de B en 7 min; 254/220 nm; Rt: 5.57 min] para proporcionar el Compuesto 28 (240 mg, 70.7 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 357; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1.56 - 1.75 (m, 1H), 1.82 - 2.31 (m, 5H), 2.47 (ddd, 1H), 2.65 - 2.80 (m, 1H), 2.93 (t, 1H), 3.08 (t, 1H), 3.66 (dtd, 4H), 4.32 (dt, 1H), 5.99 (ddd, 1H), 6.99 - 7.14 (m, 3H), 7.29 - 7.42 (m, 2H), 7.48 (dd, 1H), 8.14 (dd, 1H). RMN de ¹⁹F (300 MHz, CD₃OD) δ -77.173 (m, 13F), -118.211 (s, 1F).

Compuesto 29

Etapa 1. (3R,5R)-5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(pirimidin-4-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

Se añadió DTAD (581 mg, 2.52 mmol) a F2b (500 mg, 1.26 mmol), pirimidin-4-ol (145 mg, 1.51 mmol) y PPh₃ (827 mg, 3.15 mmol) en DCM (15 mL) a 0 °C durante un período de 5 minutos. La solución resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas. El disolvente se eliminó a presión reducida. La cromatografía en columna ultrarrápida C18 (40 a 50 % de agua en MeCN) proporcionó la fracción 1 (pico anterior: 200 mg, 33.4 %) como un aceite incoloro y la fracción 2 (pico posterior: 300 mg, 50.1 %) como un sólido blanco. La fracción 2 se separó adicionalmente y se purificó mediante HPLC quiral preparativa en una columna CHIRALPAK IA-3, eluyendo isocráticamente con IPA al 50 % en éter de petróleo (modificado con dietilamina) como eluyente. Las fracciones que contenían el compuesto deseado se evaporaron a sequedad para producir el isómero 1 ((3S,5R)-5-fluoro-1-((1S,2S,4R)-4-(4-fluorofenil)-2-(pirimidin-4-iloxi)ciclopentil)piperidin-3-il)carbamato de tert-butilo (160 mg, 41 %, 100 % de ee) como un sólido blanco e isómero 2 (110 mg, 28.2 %, 99.6 % de ee) como un sólido blanco. LCMS para ambos isómeros: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 475.

Etapa 2. 5-Fluoro-1-[4-(4-Fluorofenil)-2-pirimidin-4-iloxi-ciclopentil]piperidin-3-amina Compuesto 29



Se añadió TFA (3 mL, 0.34 mmol) al isómero 1 anterior (160 mg, 0.34 mmol) en DCM (15 mL). La solución resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas. HPLC preparativa [Columna XBridge Prep OBD C18 30 × 150 mm, 5 µm; Fase móvil A: Agua (NH₃ ac. al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 60 mL/min; Gradiente: 28 % de B hasta 40 % de B en 7 min; 254/220nm; Rt: 5.95 min] proporcionó el Compuesto 29 como un sólido blanco (75.0 mg, 59.0 %). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 375; RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.75 (dd, 1H), 8.46 (dd, 1H), 7.38 - 7.24 (m, 2H), 7.09 - 6.89 (m, 3H), 5.62 (ddd, 1H), 4.90 (d, 0,5H), 4.76 (s, 0,5H), 3.35 (s, 1H), 3.30 - 3.01 (m, 4H), 2.51 - 1.96 (m, 6H), 1.77 (td, 1H), 1.44 (dt, 1H). RMN de ¹⁹F (300 MHz, CD₃OD) δ -183.07, -119.12

Compuesto 30

Etapa 1. (3R)-1-(2-(5-bromopirimidin-2-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

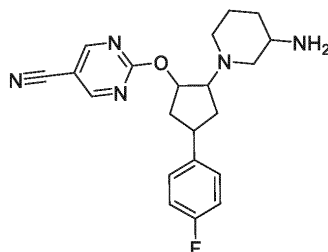
ES 2 944 735 T3

5 A una solución de F2a (900 mg, 2.38 mmol) en DMF (6 mL) se le añadió NaH (190 mg, 4.76 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 3 min, luego 5-bromo-2-cloropirimidina (690 mg, 3.57 mmol). Después de 8 h, la mezcla de reacción se inactivó con NH₄Cl saturado (ac). (30 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL), la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para producir el producto bruto. La TLC preparativa (EtOAc:éter de petróleo = 1:2), proporcionó el producto (500 mg, 39.3 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 379.

Etapa 2. (3R)-1-(2-(5-cianopirimidin-2-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

10 A una solución del carbamato anterior (330 mg, 0.62 mmol) en DMF (5 mL) se le añadió Zn(CN)₂ (145 mg, 1.23 mmol) y zinc (4.03 mg, 0.06 mmol) a ta. A continuación, se añadieron Pd₂dba₃ (106.8 mg, 0.12 mmol) y dppf (137 mg, 0.25 mmol) y la reacción se agitó durante 3 h a 120 °C. Después de diluir con EtOAc (20 mL) y lavar (agua (10 mL x 2), salmuera saturada (10 mL)), los extractos orgánicos combinados se secaron y evaporaron. El residuo se purificó por TLC preparativa (DCM:MeOH = 50:1), para producir un producto bruto (200 mg, 67.4 %) como un sólido amarillo. HPLC quiral preparativa (Columna: CHIRAL Cellulose-SB, tamaño: 0,46*15 cm; 3 µm. Fase móvil: Hexanos (DEA al 0.1 %): IPA = 80:20; Caudal: 1.0 mL/min; Detector: UV-254 nm; RT1: 7.353; RT2: 8.710) produjo (R)-1-((1S,2S,4R)-2-(5-cianopirimidin-2-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (120 mg, 57.1 %, 100 % de ee) e isómero 2 (50.0 mg, 23.81 %, 98.7 % de ee) como sólidos blancos. LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 482.

20 Etapa 3. 2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirimidin-5-carbonitrilo Compuesto 30



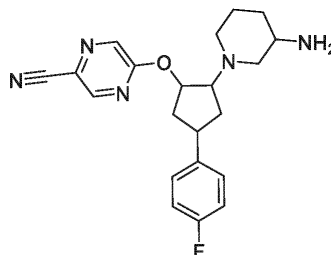
25 A una solución del isómero 1 anterior (120 mg, 0.25 mmol) en DCM (2 mL) se le añadió TFA (0.66 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 16 h y elaboración estándar, el producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XSelect CSH Prep C18 OBD, 5 µm, 19 * 150 mm; fase móvil A: agua (FA al 0.1 %), fase móvil B: MeCN ; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 2 % de B hasta 27 % de B en 7 min; 220/254 nm) para proporcionar el Compuesto 30 (100 mg, 93 %), como un sólido blanco, que resultó ser el isómero potente. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.98 (s, 2H), 8.31 (s, 1H), 7.32 (d, 2H), 7.04 (t, 2H), 5.59 (d, 1H), 3.42 (br s, 1H), 3.26 (s, 1H), 2.96 (d, 1H), 2.85 - 2.67 (m, 1H), 2.67 - 2.51 (m, 2H), 2.43 (d, 1H), 2.23 (d, 2H), 2.05 - 1.46 (metro, 5H). LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 382.

Compuesto 31

35 Etapa 1. (3R)-1-(2-(5-bromopirimidin-2-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una solución de F2a (900 mg, 2.38 mmol) en DMF (6 mL) se le añadió NaH (190 mg, 4.76 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 3 min y luego se introdujo 5-bromo-2-cloropirimidina (690 mg, 3.57 mmol). La reacción se procesó después de 8 h de agitación. Purificación por TLC preparativa para obtener el producto (500 mg, 39.3 %) como un sólido blanco. Este producto bruto se purificó aún más mediante HPLC quiral preparativa [(CHIRALPAK IC-3 tamaño: 0.46*10 cm; 3 µm. Fase móvil: Hexanos (DEA al 0.1 %): EtOH = 80:20; Caudal: 1 mL/min; Detector: 254 nm; RT1: 4.759; RT2: 5.595) para producir (3R)-1-(2-(5-bromopirazin-2-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (100 mg, 55.6 %, 99.9 % de ee) e isómero 2 (50.0 mg, 27.8 %, 100 % de ee) como un sólido blanco.

45 Etapa 2. 5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirazina-2-carbonitrilo Compuesto 31



50 A una solución del isómero 2 obtenido anteriormente (50 mg, 0.10 mmol) en DCM (2 mL) se le añadió TFA (0.5 mL, 6.5 mmol) a ta. La reacción se agitó durante 2 h y luego se sometió a una elaboración estándar. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa [Columna XBridge Prep C18 OBD, 5 µm, 19 * 150 mm; Fase móvil A: Agua (10

ES 2 944 735 T3

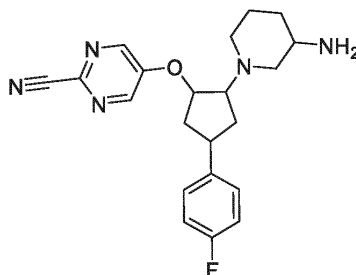
mmol/L de NH_4HCO_3), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 20 % de B hasta 33 % de B en 20 min; 254/220 nm para obtener el Compuesto 31 (30.0 mg, 76 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 382.4$; RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 8.64 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.30 (dd, 2H), 7.04 (t, 2H), 5.65 - 5.53 (m, 1H), 3.51 - 3.35 (m, 3H), 2.93 (d, 1H), 2.71 (d, 1H), 2.57 (d, 2H), 2.42 (s, 1H), 2.20 (dd, 2H), 2.02 - 1.89 (m, 1H), 1.89 - 1.72 (m, 2H), 1.65 (d, 2H).

Compuesto 32

Etapa 1. (3R)-1-(2-(2-cianopirimidin-5-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo

A una solución de F2a (260 mg, 0.69 mmol), 5-hidroxi-pirimidina-2-carbonitrilo (100 mg, 0.82 mmol) y Ph_3P (270 mg, 1.03 mmol) en DCM (10 mL) a 0 °C, se le añadió DTAD (237 mg, 1.03 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a 25 °C. La mezcla de reacción se inactivó con NaHCO_3 saturado (100 mL), se extrajo con DCM (2 x 50 mL), luego se secó y se evaporó para producir una goma naranja. La HPLC preparativa (columna XBridge Prep C18 OBD, sílice de 5 μm , 19 mm de diámetro, 150 mm de longitud, agua (que contenía NH_3 al 0.05 %)/gradiente de MeCN) proporcionó el producto (190 mg, 57.4 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 482$. HPLC quiral preparativa [Columna: CHIRALPAK IC, 2.0 cm I.D * 25 cm L; Fase móvil A: Hexanos-HPLC, Fase móvil B: EtOH-HPLC; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: A:B = 85:15 en 24 min; proporcionó (3R)-1-(2-(2-cianopirimidin-5-iloxi)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil)piperidin-3-il-carbamato de tert-butilo, isómero 1 (primera fracción; 95 mg, 50.0 %, 100 % de ee) e isómero 2 (segunda fracción; 100 mg, 52.6 %, 88.6 % de ee).

Etapa 2. 5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirimidin-2-carbonitrilo Compuesto 32



A una solución del isómero 2 (100 mg, 0.21 mmol) obtenido anteriormente en DCM (10 mL) se le añadió TFA (0.66 mL) a 25 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas y luego se elaboró. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: XSelect CSH Prep C18 OBD, 5 μm , columna de 19 mm x 150 mm; Fase móvil A: Agua (TFA al 0.05 %), Fase móvil B: MeCN; Caudal: 20 mL/min; Gradiente: 10 % de B hasta 32 % de B en 7 min; 254/220 nm) para obtener el Compuesto 32 (80 mg, 51.6 %) como un sólido blanco. LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 382$; RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 8.63 (s, 2H), 7.42 - 7.26 (m, 2H), 7.13 - 6.97 (m, 2H), 5.57 - 5.40 (m, 1H), 4.08 (ddd, 1H), 3.76 - 3.36 (m, 5H), 3.11 (q, 2H), 2.63 (ddd, 1H), 2.35 (dtd, 2H), 2.23 - 2.01 (m, 3H), 2.01 - 1.81 (m, 1H), 1.70 (dd, 1H). RMN de ^{19}F (282 MHz, CD_3OD) δ -77.14, -118.01.

Estudios cristalográficos de rayos X del Compuesto 10, Forma A.

La muestra del compuesto 10 obtenida como se describió anteriormente se montó en un montaje de oblea de cristal de silicio único (SSC) y la difracción de rayos X en polvo se registró con un Theta-Theta PANalytical X'Pert PRO (longitud de onda de los rayos X 1.5418 Å, radiación de Cu filtrada con Ni, Voltaje 45 kV, emisión del filamento 40 mA). Se usaron rendijas automáticas de divergencia variable y antidispersión y las muestras se rotaron durante la medición. Las muestras se escanearon desde 2 - 50° 2Theta usando un ancho de paso de 0.013° y un tiempo de medición de paso de 233 segundos usando un detector PIXCEL (longitud activa 3.35° 2Theta).

Los 13 picos de difracción de rayos X en polvo más destacados para el Compuesto 10, Forma A, se indican en la Tabla 1 anterior. Los valores de intensidad relativa de la Tabla 1 se asignan de acuerdo con las definiciones de la Tabla 3 a continuación.

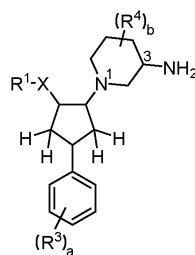
Tabla 3

% Intensidad Relativa*	Definición
25 - 100	vs (muy fuerte)
10 - 25	s (fuerte)
3 - 10	m (media)
1 - 3	w (débil)

* Las intensidades relativas se derivan de difractogramas medidos con rendijas fijas

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula 1



Fórmula 1

en la que:

10 X es a) O, y R¹ es un anillo aromático o heteroaromático de 6 miembros seleccionado entre fenilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo o piridazilo, en la que R¹ está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes Y seleccionados independientemente entre F, Cl, Br, CN, OH, O-alquilo C₁₋₃, OCF₃, alquilo C₁₋₃, C(O)NH₂, CF₃ o ciclopropilo; o b) NR², y en el que N, R¹ y R² juntos forman un heterociclo aromático de 5 miembros que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes Y que se seleccionan independientemente entre F, Cl, CN, o Me;

15 R³ se selecciona independientemente entre F, Cl, CN, metilo, metoxi, hidroxilo y etinilo; R⁴ se selecciona independientemente entre F o Cl unido a C2, C4 o C5 del anillo de piperidina; y los números enteros a y b se seleccionan independientemente entre 0, 1 o 2; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el grupo piperidina y el grupo XR¹ están en configuración trans.

3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la piperidina y el grupo fenilo están en configuración cis, y/o

25 en el que un sustituyente R³ está ubicado en posición para con respecto al enlace con el anillo de ciclopentano, preferiblemente en el que el sustituyente R³ es F y a = 1.

4. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que X es O, preferiblemente en el que el anillo aromático o heteroaromático de 6 miembros R¹ se selecciona entre fenilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo o piridazilo y en el que R¹ está sustituido con al menos un sustituyente Y seleccionado entre Me, Cl, F y CN.

30

5. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que X es NR², preferiblemente en el que el heterociclo aromático de 5 miembros que comprende NR¹R² no está sustituido.

35 6. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el heterociclo aromático de 5 miembros que comprende NR¹R² se selecciona entre pirrol, imidazol, pirazol y 1,2,4-triazol.

7. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre:

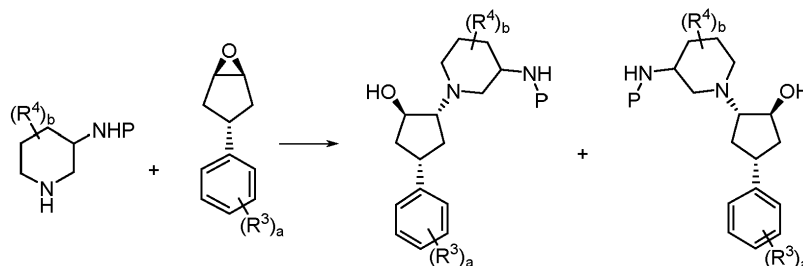
40 1-(4-(4-fluorofenil)-2-(triazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina;
1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo;
1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-3-carbonitrilo;
1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirrol-3-carbonitrilo;
1-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]triazol-4-carbonitrilo;

45 1-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo;
1-[2-(3-amino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]pirazol-4-carbonitrilo;
1-[4-(4-fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil]piperidin-3-amina;
5-fluoro-1-1-(4-(4-fluorofenil)-2-pirazol-1-il-ciclopentil]piperidin-3-amina;
5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil]piperidin-3-amina;

50 5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il)ciclopentil]piperidin-3-amina;
1-[4-(4-fluorofenil)-2-(tetrazol-2-il)ciclopentil] piperidin-3-amina;
1-(2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]-1,2,4-triazol-3-carbonitrilo;
4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-hidroxifenil)ciclopentoxi]benzonitrilo;
4-(2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluoro-3-metoxifenil)ciclopentoxi]benzonitrilo;

55 4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(3-fluorofenil)ciclopentoxi]-3-clorobenzonitrilo;
4-[2-(3-amino-4,4-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]benzonitrilo;
4-[2-(5-amino-3,3-difluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]benzonitrilo;
4-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]-2-fluorobenzonitrilo;
2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi]benzonitrilo,

- 4-(2-(3-amino-1-piperidil)-4-fenil-ciclopentoxi]-3-cloro-benzonitrilo;
 6-[2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]-5-metil-piridazin-3-carbonitrilo;
 1-[2-(4-cloropiridazin-3-il)oxi-4-(4-fluorofenil)ciclopentil]piperidin-3-amina;
 6-(2-(3-amino-5-fluoro-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]piridazin-3-carbonitrilo;
 5 1-[4-(4-fluorofenil)-2-(5-fluoropiridazin-3-il)oxi-ciclopentil]piperidin-3-amina;
 6-(2-((R)-3-aminopiperidin-1-il)-4-(4-fluorofenil)ciclopentiloxi)nicotinonitrilo;
 6-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]piridin-3-carbonitrilo;
 1-[4-(4-fluorofenil)-2-piridazin-3-iloxi-ciclopentil]piperidin-3-amina;
 5-fluoro-1-(4-(4-fluorofenil)-2-pirimidin-4-iloxi-ciclopentil]piperidin-3-amina;
 10 2-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirimidin-5-carbonitrilo;
 5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirazina-2-carbonitrilo; y
 5-[2-(3-amino-1-piperidil)-4-(4-fluorofenil)ciclopentoxi]pirimidin-2-carbonitrilo;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 15 8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.
9. Una forma cristalina de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina de acuerdo con la reivindicación 1
- 20 10. Forma A de (3R,5R)-5-fluoro-1-((1R,2R,4S)-4-(4-fluorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)ciclopentil)piperidin-3-amina de acuerdo con la reivindicación 9 caracterizado por proporcionar al menos uno de los siguientes valores de 2θ medidos utilizando radiación de CuKα: 17.1° y 20.2°.
- 25 11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una forma física de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, y al menos un diluyente, excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable.
- 30 12. Un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o una forma física de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10,
- a) para su uso en la fabricación de un medicamento, opcionalmente en el que el medicamento es para el tratamiento de enfermedad renal, o
 b) para su uso como medicamento, o
 35 c) para uso en el tratamiento o profilaxis de enfermedades y condiciones en las que la inhibición de TRPC6 y/o TRPC3 es beneficiosa, o
 d) para uso en el tratamiento de enfermedad renal, opcionalmente en el que la enfermedad es glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS) con una mutación de ganancia de función de TRPC6.
- 40 13. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o una forma física de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en un método de tratamiento que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o forma física de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, a un paciente que lo necesite.
- 45 14. La cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o forma física para usar en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el paciente que lo necesita tiene una enfermedad renal, opcionalmente en el que la enfermedad es esclerosis glomerular segmentaria focal con una mutación de ganancia de función de TRPC6.
- 50 15. Proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula I como se define en la reivindicación 1 que implica la etapa



55 en la que P es un grupo protector y los grupos restantes son como se define en la reivindicación 1.

Figura 1: Patrón de Difracción de Rayos X en Polvo, Compuesto 10, Forma A

(eje y = intensidad relativa)

