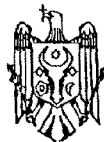




MD/EP 3334721 T2 2021.09.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3334721 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07D 401/12 (2006.01.01)
A61K 31/4439 (2006.01.01)
A61P 25/06 (2006.01.01)

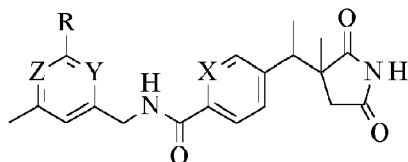
(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2018 0605 (22) Data de depozit: 2016.08.05 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16751123.7, 2016.08.05 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3334721, 2018.06.20 (31) Numărul cererii prioritare: 201562203996 P; 201562266867 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.08.12; 2015.12.14 (33) Țara cererii prioritare: US; US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 09/2021, 2021.09.30 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 17/2021, 2021.04.28 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 08/2018, 2018.08.31
(71) Solicitant: ELI LILLY AND COMPANY, US (72) Inventatori: COATES David Andrew, US; FORTNER Kevin Charles, US; MASSEY Steven Marc, US; MYERS Jason Kenneth, US; NAVARRO Antonio, US; SIEGEL Miles Goodman, US; STUCKY Russell Dean, US (73) Titular: ELI LILLY AND COMPANY, US (74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru	

(54) Antagoniști ai receptorului CGRP

(57) Rezumat:

1
Prezenta invenție furnizează un compus
cu Formula II:



Formula II

2
sau o sare acceptabilă farmaceutic a
acestuia.

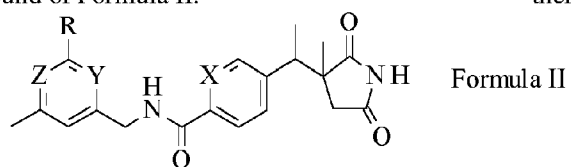
Revendicări: 18

MD/EP 3334721 T2 2021.09.30

(54) CGRP receptor antagonists**(57) Abstract:**

The present invention provides a ¹ or a pharmaceutically acceptable salt ² thereof.

Claims: 18



Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

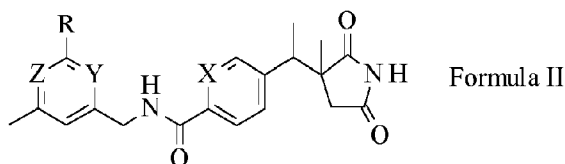
Prezenta invenție se referă la anumiți noi compuși antagoniști ai receptorului peptidic înrudit cu gena calcitonină (CGRP), la compoziții farmaceutice cuprinzând compuși, la compuși pentru utilizare în prevenirea sau tratarea anumitor tulburări fiziologice cum ar fi migrena, și la intermediari și procedee utile în sinteza compușilor.

Prezenta invenție este în domeniul prevenirii și tratamentului migrenei și a altor boli și tulburări neurologice despre care se crede că sunt mediate de CGRP (vezi de exemplu, S. Benemei, și colab., Current Opinion in Pharmacology, 9, 9-14 (2009)). Migrena este o boală debilitantă suferită de milioane de oameni din întreaga lume. Opțiunile de tratament pentru migrenă includ triptani, cum ar fi sumatriptan și zolmitriptan. Regretabil, agenții aprobați în prezent disponibili pacientului nu furnizează întotdeauna un tratament eficient, și acești agenți pot fi asociați cu diferite efecte secundare nepotrivite cum ar fi amețea, parestezia, și disconfortul toracic. În plus, triptanii posedă anumite preocupări cardiovasculare determinându-i să fie contraindicați la pacienții care suferă de boli cardiovasculare de bază substanțiale sau hipertensiune necontrolată (vezi T.W. Ho, și colab., The Lancet, 372, 2115-2123 (2008)). Astfel, există o necesitate semnificativă nesatisfăcută de prevenire și tratament al migrenei. Antagoniștii receptorului CGRP sunt doriți pentru a furniza un tratament mai eficient pentru prevenirea anumitor boli neurologice, cum ar fi migrena.

Brevetul din Statele Unite nr. 6.680.387 divulgă anumite 5-benzil- sau 5-benziliden-tiazolidin-2,4-dione pentru tratamentul diabetului zaharat de tip-II, aterosclerozei, hipercolesterolemiei, și hiperlipidemiei. WO 2012/129013 A1 divulgă derivați de piperidinonă carboxamidă spirohidantoină care sunt antagoniști ai receptorilor CGRP.

Prezenta invenție furnizează anumiți noi compuși care sunt antagoniști ai receptorului CGRP. Mai mult, prezenta invenție furnizează anumiți noi compuși care sunt antagoniști ai receptorului CGRP care au potențial pentru un profil de efecte secundare îmbunătățit în tratamentul sau prevenirea migrenei.

Corespunzător, prezenta invenție furnizează un compus cu Formula II:



in care

Y este CH sau N;

Z este CH sau N;

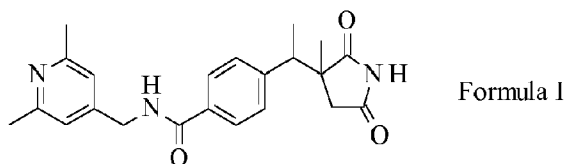
cu condiția că atunci când Y este CH, Z este N și când Y este N, Z este CH;

X este CH sau N; și

R este alchil C1-C3, cicloalchil C3-C5, sau CN,

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție mai furnizează un compus cu Formula I:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Mai mult, această invenție furnizează un compus cu Formula I sau Formula II, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în terapie. Această invenție furnizează de asemenea un compus cu Formula I sau Formula II, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratamentul migrenei. În plus, această invenție furnizează un compus cu Formula

I sau Formula II, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în prevenirea migrenei. Mai mult, această invenție furnizează un compus cu Formula I sau Formula II, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în antagonizarea receptorului CGRP la un pacient. Chiar mai mult, această invenție furnizează utilizarea unui compus cu Formula I sau Formula II, sau a unei săruri acceptabile farmaceutic a acestuia, pentru fabricarea unui medicament pentru tratamentul migrenei sau pentru prevenirea migrenei.

Invenția mai furnizează o compoziție farmaceutică, cuprinzând un compus cu Formula I și Formula II, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, cu unul sau mai mulți purtători, diluanți, sau excipienți acceptabili farmaceutic. Invenția mai furnizează un procedeu pentru prepararea unei compoziții farmaceutice, cuprinzând amestecarea unui compus cu Formula I sau Formula II, sau a unei săruri acceptabile farmaceutic a acestuia, cu unul sau mai mulți purtători, diluanți, sau excipienți acceptabili farmaceutic. Această invenție cuprinde de asemenea noi intermediari și procedee pentru sinteza compușilor cu Formula I și Formula II.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „alchil C1-C3” se referă la un metil, etil, propil, și grupare izopropil.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „cicloalchil C3-C5” se referă la un ciclopropil, ciclobutil, și grupare ciclopentil.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenii „tratarea”, „tratament”, sau „pentru a trata” includ restrângerea, încetinirea, oprirea, sau inversarea progresului sau severității unui simptom sau tulburare existente.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „prevenirea” sau „prevenire” se referă la protejarea unui pacient care este predispus la o anumită boală sau tulburare, cum ar fi migrena, dar care nu suferă în prezent de simptomele bolii sau tulburării, cum ar fi simptomele de migrenă.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „pacient” se referă la un mamifer, în particular un om.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „cantitate eficientă” se referă la cantitatea sau doza compusului invenției, sau a unei săruri acceptabile farmaceutic a acestuia care, după administrarea unei singure sau multiple doze pacientului, furnizează efectul dorit la pacientul sub diagnostic sau tratament.

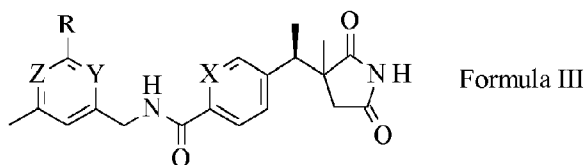
O cantitate eficientă poate fi cu ușurință determinată de diagnosticianul curant, ca o persoană calificată în domeniu, prin utilizarea de tehnici cunoscute și prin observarea rezultatelor obținute în circumstanțe analoage. În determinarea cantității eficiente pentru un pacient, un număr de factori sunt luați în considerație de către diagnosticianul curant, incluzând, dar fără a se limita la: specia pacientului; dimensiunea sa, vârsta, și sănătatea generală; boala sau tulburarea specifică implicată; gradul de, sau implicarea sau severitatea bolii sau tulburării; răspunsul pacientului individual; compusul particular administrat; modul de administrare; caracteristicile de biodisponibilitate ale preparării administrate; regimul de dozare selectat; utilizarea de medicație concomitentă; și alte circumstanțe relevante.

Compușii prezentei invenții sunt în general eficienți pe un interval de dozare larg. De exemplu, dozajele pe zi se încadrează în mod normal în intervalul de la aproximativ 0,01 până la aproximativ 20 mg/kg din greutatea corporală. În unele cazuri niveluri ale dozajului sub limita inferioară a intervalului menționat mai sus pot fi mai mult decât adecvate, în timp ce în alte cazuri încă doze mai mari pot fi utilizate cu efecte secundare acceptabile, și prin urmare intervalul de dozare de mai sus nu intenționează să limiteze scopul invenției în nici un fel.

Compușii prezentei invenții sunt preferabil formulați ca compoziții farmaceutice administrate pe orice cale care face compusul biodisponibili, incluzând căile orale și transdermale. Cel mai preferabil, astfel de compoziții sunt pentru administrare orală. Astfel de compoziții farmaceutice și procedeele pentru prepararea acestora sunt bine cunoscute în domeniu. (Vezi, de exemplu, Remington: The Science and Practice of Pharmacy; D.B. Troy, Editor, a 21-a ediție, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

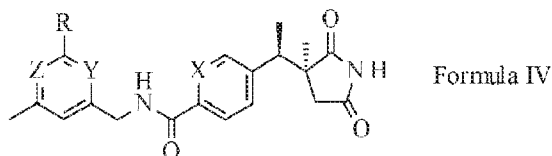
Compușii cu Formula I și Formula II, sau sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora sunt în special utili pentru utilizare în prevenirea și metodele de tratament ale invenției, dar anumite grupuri, substituenți, și configurații sunt preferate. Următoarele paragrafe descriu astfel de grupuri, substituenți, și configurații preferate. Deși prezenta invenție are în vedere toți enantiomerii și diasteromerii individuali, precum și amestecurile de enantiomeri ale compusilor menționați, incluzând racemații, compușii cu configurație absolută cum s-a stabilit mai jos sunt în special preferați. Se înțelege că aceste preferințe sunt aplicabile atât compușilor noi ai invenției cât și utilizărilor terapeutice și profilactice ale invenției.

Compușii cu Formula III:



sau sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora sunt preferați.

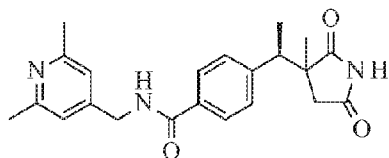
5 Compușii cu Formula IV:



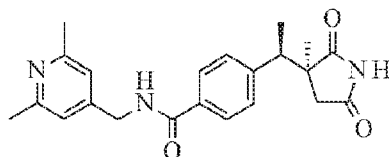
10 sau sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, sunt în plus preferați. În plus, compușii sau sărurile cu Formulele I, II, III și IV în care X este CH sunt preferați. Compușii sau sărurile cu Formulele I, II, III, și IV în care Y este CH și Z este N sunt în plus preferați. Compușii sau sărurile cu Formulele I, II, III, și IV în care R este alchil C1-C3 sunt în plus preferați cu metilul fiind în special preferat.

Următorii compușii sunt mai preferați:

15



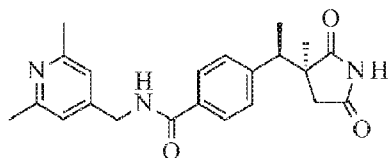
și



20

și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora.

Următorul compus este în special preferat:



25

și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, cu baza liberă corespunzătoare fiind în special preferată, și un anhidrat cristalin al bazei libere corespunzătoare care este caracterizat printr-un maxim substanțial în spectrul de difracție cu raze X la unghi de difracție 2-teta de 13,4°, în combinație cu unul sau mai multe din maximele selectate din grupul constând din 14,4°, 18,1°, 19,4°, 20,9°, 21,2°, 21,5° și 26,5°, cu o toleranță pentru unghiurile de difracție de 0,2 grade, este în special cel mai preferat.

30 Metansulfonatul de N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil}benzamidă este un compus în special preferat. Metansulfonatul N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil} benzamidă cristalin care este caracterizat printr-un maxim substanțial în spectrul de difracție cu raze X la unghi de difracție 2-teta de la 18,8° în combinație cu unul sau mai multe din maxime selectate din grupul constând din 23,2°, 24,7°, și 15,2°; cu o toleranță pentru unghiurile de difracție de 0,2 grade este în special preferat.

35

Suplimentar, anumiți intermediari descriși în următoarele preparări pot conține unul sau mai multe grupări de protecție la azot. Se înțelege că grupările de protecție pot fi variate, cum se apreciază de către o persoană calificată în domeniu, depinzând de condițiile de reacție particulare și transformările particulare care urmează să fie efectuate. Condițiile de protejare și deprotejare sunt bine cunoscute specialistului calificat și sunt descrise în literatură (vezi de exemplu „Greene's Protective Groups in Organic Synthesis”, ediția a patra, de Peter G.M. Wuts și Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc. 2007).

Izomerii, enantiomerii, și diastereomerii individuali pot fi separați sau rezolvați de cineva având calificare obișnuită în domeniu la orice punct convenabil din sinteza compușilor invenției, prin metode cum ar fi tehnici de cristalizare selective sau cromatografie chirală (vezi, de exemplu, J. Jacques, și colab., „Enantiomers, Racemates, and Resolutions”, John Wiley & Sons, Inc., 1981, și E.L. Eliel și S.H. Wilen, „Stereochemistry of Organic Compounds”, Wiley-Interscience, 1994).

O sare acceptabilă farmaceutic a compușilor invenției, cum ar fi o sare clorhidrat, poate fi formată, de exemplu, prin reacția unei baze libere adecvate a unui compus al invenției, un acid adecvat acceptabil farmaceutic cum ar fi acidul clorhidric într-un solvent adecvat cum ar fi dietil eter în condiții standard bine cunoscute în domeniu. Suplimentar, formarea de astfel de săruri poate avea loc simultan după deprotejarea unei grupări de protecție la azot. Formarea de astfel de săruri este bine cunoscută și apreciată în domeniu. Vezi, de exemplu, Gould, P.L., „Salt selection for basic drugs”, International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986); Bastin, R.J., și colab., „Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities”, Organic Process Research and Development, 4: 427-435 (2000); și Berge, S.M., și colab., „Pharmaceutical Salts”, Journal of Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19, (1977).

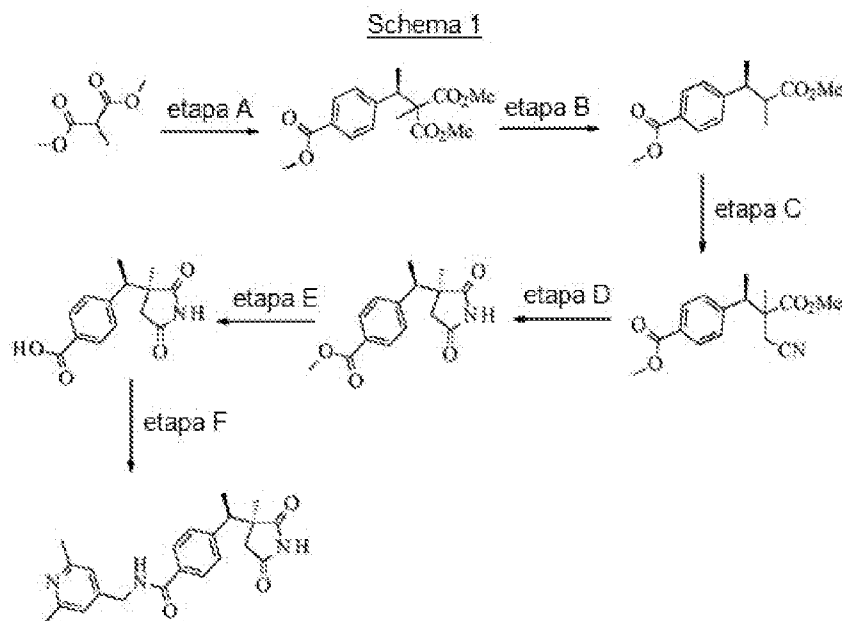
Anumite abrevieri sunt definite după cum urmează: „ACN” se referă la acetonitril; „BOP” se referă la (benaotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfoniu hexafluorofosfat; „c-Bu” se referă la ciclobutil; „c-Pr” se referă la ciclopropil; „DCM” se referă la DCM sau clorură de metilen; „DMEA” se referă la N,N-dimetiletilamină; „DIPEA” se referă la N,N-diizopropiletilamină; „DMF” se referă la N,N-dimetilformamidă; „DMSO” se referă la dimetilsulfoxid; „EDCI” se referă la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimidă; „Et” se referă la etil; „Et₂O” se referă la dietil eter; „EtOAc” se referă la acetat de etil; „EtOH” se referă la etanol; „HOAT” se referă la 1-hidroxi-7-azabenzotriazol; „HATU” se referă la N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo-[4,5-b]piridin-1-ilmetilen]-N-metilmetanaminu hexafluorofosfat N-oxid; „HPLC” se referă la cromatografie de lichide de înaltă performanță; „HOBt” se referă la hidroxibenzotriazol; „hr” se referă la oră sau ore; „HTRF” se referă la fluorescență omogenă rezolvată în timp; „IC₅₀” se referă la concentrația unui agent care produce 50% din răspunsul inhibitor maxim posibil pentru acel agent; „i-Pr” se referă la izopropil; „kPa” se referă la kilopascal sau kilopascali; „kV” se referă la kilovolți; „LAH” se referă la hidru de litiu aluminu; „LC-ES/MS” se referă la spectrometrie de masă cu electropulverizare cromatografică de lichide; „LDA” se referă la diizopropilamidă de litiu; „mA” se referă la milliampere sau miliamperi; „min” se referă la minut sau minute; „Me” se referă la metil; „MeOH” se referă la metanol sau metil alcool; „MTBE” se referă la metil-terț-butil eter; „n-BuLi” se referă la n-butillitiu; „psi” se referă la livre pe inci pătrat; „rpm” se referă la rotații pe minut; „RT” se referă la temperatura camerei; „SEM” se referă la eroarea standard a mediei; „SFC” se referă la cromatografie în fluid supercritic; „T3P” se referă la soluție de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrisfosforinan-2,4,6-trioxid; „t-BuOH” se referă la terț-butanol; „TEA” se referă la trietilamină; „THF” se referă la tetrahidrofuran; „t_R” se referă la timp de retenție; „U/mL” se referă la unități pe mililitru.

Se înțelege de către cineva având calificare obișnuită în domeniu că termenii „mesilat” și „acid metansulfonic” se referă fiecare la compusul cu următoarea structură:



Compușii prezentei invenții, sau sărurile acestora, pot fi preparați printr-o varietate de proceduri cunoscute cuiva având calificare obișnuită în domeniu, din care unele sunt ilustrate în schemele, preparările, și exemplele de mai jos. Cineva având calificare obișnuită în domeniu recunoaște că etapele de sinteză specifice pentru fiecare din căile descrise pot fi combinate în diferite moduri, sau în conjuncție cu etape din diferite scheme, pentru a prepara compușii invenției, sau sărurile acestora. Produsele fiecărei etape din schemele de mai jos pot fi recuperate prin metode convenționale bine cunoscute în domeniu, incluzând extragerea, evaporarea, precipitarea, cromatografia, filtrarea, triturarea, și cristalizarea. În schemele de mai jos, toți substituenții, dacă

nu se indică altfel, sunt cum s-au definit anterior. Reactivii și materiile prime sunt cu ușurință disponibile cuiva având calificare obișnuită în domeniu. Următoarele scheme, preparări, exemple, și teste ilustrează mai departe invenția.



În Schema 1, etapa A, aproximativ 1,1 echivalenți de dimetil 2-metilpropandioat sunt combinați cu aproximativ 1 echivalent de 4-{{(1S)-1-[(metilsulfonil)oxi]etil}benzoat de metil într-un solvent organic adecvat, cum ar fi DMF sub o atmosferă inertă, cum ar fi azotul. Soluția este răcită la aproximativ 0°C și aproximativ 1,3 echivalenți ai unei baze anorganice adecvate, care este relativ solubilă în solvenți organici polari, cum ar fi Cs₂CO₃, se adaugă cu agitare la aproximativ 0°C timp de aproximativ 1 oră. Reacția este apoi încălzită gradual la RT și produsul este izolat și purificat utilizând tehnici standard bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metode de extragere urmate de cromatografie. De exemplu, amestecul de reacție este tratat cu un solvent organic adecvat, cum ar fi DCM și bicarbonat de sodiu apos saturat cu amestecare. Straturile sunt separate, stratul apos este extras cu DCM, și straturile organice sunt combinate, uscate pe Na₂SO₄ anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa A. Produsul brut poate fi apoi purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu un amestec de solvenți organici adecvați, cum ar fi hexani/acetat de etil pentru a furniza {(1R)-1-[4-(metoxicarbonil)fenil]etil}(metil)propandioat de dimetil purificat din etapa A.

În Schema 1, etapa B, {(1R)-1-[4-(metoxicarbonil)fenil]etil}(metil)propandioatul de dimetil este combinat cu un solvent organic adecvat umed cum ar fi dimetilsulfoxid:apă (aproximativ 43 mL:1 mL) sub azot la RT și se adaugă aproximativ 1,3 echivalenți de clorură de sodiu cu agitare. Reacția este apoi încălzită la aproximativ 190°C peste aproximativ 50 min și reacția este apoi menținută la aproximativ 190°C timp de aproximativ 3,5 ore. Reacția este apoi răcită la RT și produsul este izolat și purificat utilizând tehnici bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metode de extragere și cromatografie. De exemplu, reacția este diluată cu apă și extrasă cu un solvent organic adecvat, cum ar fi dietil eter. Extractele organice combinate sunt apoi spălate cu clorură de sodiu apoasă saturată, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa B. Acest produs brut poate fi apoi purificat prin cromatografie rapidă pe gel de siliciu eluând cu un amestec de solvenți organici adecvați, cum ar fi hexani/acetat de etil pentru a furniza 4-[(2S)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoat de metil purificat ca un amestec de diastereomeri.

În Schema 1, etapa C, o soluție de aproximativ 1,1 echivalenți ai unei baze organice adecvate într-un solvent organic adecvat, cum ar fi diizopropilamida de litiu (LDA) în hexan, este răcită la aproximativ -75°C sub o atmosferă inertă, cum ar fi azotul. O soluție de 4-[(2S)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoat de metil preparat în etapa B într-un solvent organic adecvat, cum ar fi tetrahidrofuran se adaugă în picătură la soluția LDA peste aproximativ 40 min. Amestecul de reacție este apoi agitat la aproximativ -75°C timp de aproximativ 75 min. O soluție de aproximativ 1,5 echivalenți de bromoacetonitril într-un solvent organic adecvat, cum ar fi THF se adaugă în picătură la amestecul de reacție peste aproximativ 12 min. Amestecul de reacție este apoi lăsat să se încălzească încet la RT și se agită timp de aproximativ 12 ore. Produsul este apoi izolat și

purificat utilizând tehnici bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metode de extragere și cromatografie. De exemplu, reacția este stinsă cu clorură de amoniu apoasă saturată și reacția este extrasă cu un solvent organic adecvat, cum ar fi acetatul de etil. Extractele organice combinate sunt apoi spălate cu clorură de sodiu apoasă saturată, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa C. Produsul brut este apoi purificat prin cromatografie rapidă pe gel de siliciu eluând cu un amestec de solvenți organici adecvați, cum ar fi hexani/acetat de etil pentru a furniza 4-[(2*R*)-3-(cianometil)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoat de metil ca un amestec de diastereomeri.

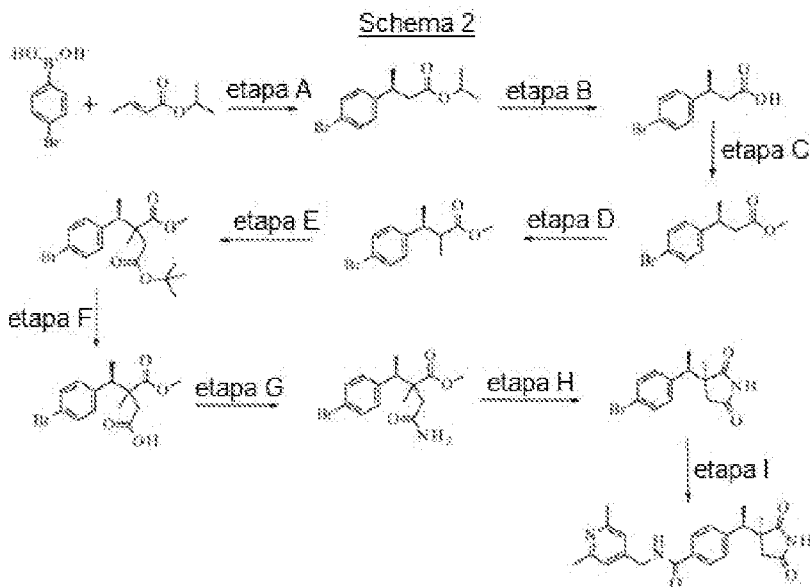
În Schema 1, etapa D, 4-[(2*R*)-3-(cianometil)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoatul de metil curat preparat în etapa C este răcit într-o baie de apă/gheață și tratat în picătură cu aproximativ 10 echivalenți de acid sulfuric concentrat peste aproximativ 20 min. Baia rece este apoi îndepărtată și reacția este agitată la RT timp de aproximativ 3 ore. Amestecul de reacție este apoi răcit într-o baie de apă/gheață, stins cu apă cu gheață, și amida brută intermediară este izolată utilizând tehnici de extragere standard. De exemplu, reacția stinsă este extrasă cu un solvent organic adecvat, cum ar fi DCM, extractele organice combinate sunt spălate cu apă, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza amida brută intermediară. Amida brută intermediară este apoi dizolvată într-un solvent organic adecvat, cum ar fi tetrahidrofuran și apă, tratată cu aproximativ 2,5 echivalenți ai unei baze anorganice, cum ar fi carbonat de sodiu, și încălzită la aproximativ 50°C timp de aproximativ 5 ore. Amestecul de reacție este apoi răcit într-o baie de apă/gheață, acidulat până la aproximativ pH $\square$ 2 cu 5 *N* HCl apos, și extras cu un solvent organic adecvat, cum ar fi acetatul de etil. Extractele organice combinate sunt spălate cu clorură de sodiu apoasă saturată, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut din etapa D. Produsul brut poate fi apoi purificat prin tehnici standard bine cunoscute în domeniu, cum ar fi cromatografia rapidă pe gel de siliciu, eluând cu un eluent organic adecvat, cum ar fi hexani/acetat de etil pentru a furniza produsul purificat din etapa D, 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoat de metil, ca diastereomer major.

În Schema 1, etapa E, aproximativ 3 echivalenți ai unei baze adecvate, cum ar fi hidroxidul de litiu monohidrat se adaugă la o soluție de 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoat de metil într-un amestec de solvent organic adecvat, cum ar fi tetrahidrofuran și apă. Amestecul de reacție este apoi agitat la aproximativ RT timp de aproximativ 16 ore, și apoi este acidulat până la aproximativ pH $\square$ 2 cu un acid adecvat, cum ar fi HCl 1*N* apos. Solventul organic poate fi apoi îndepărtat sub vid și solidul colectat prin filtrare și uscat sub vid la aproximativ 45°C pentru a furniza produsul din etapa E, acid 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic, care poate fi utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

În Schema 1, etapa F, produsul din etapa E, acid 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic este cuplat cu diclorhidrat de 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină utilizând metode sintetice de amidare standard bine cunoscute în domeniu. De exemplu, produsul din etapa E poate fi combinat cu aproximativ 1,2 echivalenți de diclorhidrat de 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină (Schema 3, etapa B), aproximativ 1,2 echivalenți de EDCI, și aproximativ 1,2 echivalenți de HOBt într-un solvent organic adecvat, cum ar fi *N,N*-dimetilformamidă. Aproximativ 4 echivalenți ai unei baze organice non-nucleofice adecvate, cum ar fi trietilamina sunt apoi adăugați cu agitare la RT. Amestecul de reacție este apoi agitat timp de aproximativ 16 ore și produsul poate fi apoi izolat și purificat utilizând tehnici bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metode de extragere și cromatografie. De exemplu, apa poate fi apoi adăugată la amestecul de reacție care este apoi extras cu un solvent organic adecvat, cum ar fi DCM. Extractele organice sunt combinate, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa F. Produsul brut poate fi apoi purificat prin cromatografie rapidă pe gel de siliciu cu un eluent adecvat, cum ar fi gradientul de DCM/metanol pentru a furniza produsul purificat din etapa F, *N*-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă.

Alternativ, în Schema 1, etapa F, produsul din etapa E poate fi combinat cu aproximativ 1,05 echivalenți de diclorhidrat de 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină (Schema 3, etapa B) într-un solvent organic adecvat cum ar fi DMF. Amestecul de reacție poate fi tratat cu aproximativ 6 echivalenți DIPEA urmat de un agent de cuplare cum ar fi BOP, cu agitare la RT timp de aproximativ 1-2 ore și produsul poate fi izolat utilizând tehnici bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metode de extragere și cromatografie. De exemplu, apa poate fi apoi adăugată la amestecul de reacție care este apoi acidulat la pH -7-8 cu un acid adecvat, cum ar fi 5 *N* HCl, și extrasă cu un solvent organic adecvat, cum ar fi MTBE. Extractele organice sunt combinate, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, concentrate sub presiune redusă, și produsul brut poate fi purificat prin

cromatografie pe gel de siliciu cu un eluent adecvat, cum ar fi un gradient de metanol/acetat de etil în hexani, pentru a obține produsul purificat din etapa F, N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-{(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil} benzamidă.



5

În Schema 2, etapa A, arilarea asimetrică a izopropilului (*E*)-but-2-enoat poate fi realizată în condiții de cuplare utilizând catalizator de metal de tranziției cum ar fi rodiiu cu enantioselectivitate ridicată. Produs de catalizare rodiiu izopropil (3*S*)-3-(4-bromofenil)butanoat. De exemplu, aproximativ 1,05-1,1 echivalenți de acid 4-bromofenil boronic pot fi tratați cu aproximativ 0,01 echivalenți ai unui catalizator de rodiiu, specific, tetrafluoroborat de bis(norbornadien)rodiiu(I), urmat de adăugarea unui ligand chiral adecvat cum ar fi 0,01-0,015 echivalenți de (*R*)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil, aproximativ 1 echivalent TEA, și aproximativ 1 echivalent de izopropil (*E*)-but-2-enoat într-un amestec de solvenți adecvați cum ar fi 1,4-dioxan umed sau THF și apă (aproximativ 8:1). Amestecul de reacție rezultat poate fi încălzit la aproximativ 40°C timp de aproximativ 18 ore. Produsul poate fi apoi izolat și purificat utilizând tehnici bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metode de extragere și cromatografie. De exemplu, amestecul de reacție poate fi diluat cu apă și extras cu un solvent organic nepolar adecvat cum ar fi MTBE sau DCM. Extractele organice pot fi combinate, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa A. Produsul brut poate fi apoi purificat prin cromatografie rapidă pe gel de siliciu cu un eluant adecvat, cum ar fi gradient de hexani/EtOAc, pentru a furniza produsul purificat din etapa A, izopropil (3*S*)-3-(4-bromofenil)butanoat în exces enantiomeric ridicat.

În Schema 2, etapa B, hidroliza produsului din Schema 2, etapa A, poate fi realizată în condiții de saponificare bine cunoscute în domeniu. De exemplu, acidul (3*S*)-3-(4-bromofenil)butanoic poate fi dizolvat într-un solvent alcoolic adecvat cum ar fi MeOH și tratat cu un exces de bază minerală apoasă cum ar fi NaOH. După încălzire timp de aproximativ 1 oră, produsul poate fi apoi izolat și purificat utilizând tehnici bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metodele de extragere, triturare, și evaporare. De exemplu, amestecul de reacție poate fi extras cu un solvent organic adecvat cum ar fi DCM și stratul apos separat rezultat poate fi tratat cu un exces al unui acid mineral cum ar fi HCl conc. la pH $\square$ 4. Straturile apoase acidulate pot fi apoi extrase cu un solvent organic adecvat cum ar fi DCM. Extractele organice poate fi combinate, uscate pe sulfat de sodiu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa B. Produsul brut poate fi triturat cu un solvent organic nepolar cum ar fi heptanii, precipitatul rezultat poate fi filtrat, și filtratul poate fi concentrat sub presiune redusă pentru a obține produsul din etapa B, acid (3*S*)-3-(4-bromofenil)butanoic, în exces enantiomeric foarte ridicat.

În Schema 2, etapa C, esterificarea produsului din Schema 2, etapa B, poate fi efectuată sub un larg interval de metode de esterificare acidice/bazice bine cunoscute în domeniu, sau prin esterificare directă cu diazometan. De exemplu, acidul (3*S*)-3-(4-bromofenil)butanoic dizolvat într-un solvent alcoolic adecvat cum ar fi MeOH poate fi tratat cu un exces de mineral acid, cum ar fi H₂SO₄ concentrat. Amestecul rezultat poate fi încălzit timp de aproximativ 2 ore, și produsul poate fi apoi izolat prin utilizarea tehnicilor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea. Amestecul

40

de reacție poate fi concentrat sub presiune redusă, și reziduul rezultat poate fi partiționat între apă și un solvent organic adecvat cum ar fi MTBE. Extractele organice pot fi combinate, spălate cu apă, uscate pe sulfat de magneziu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul din etapa C, (3*S*)-3-(4-bromofenil)butanoat de metil, adecvat pentru utilizare fără

5 purificare suplimentară.

În Schema 2, etapa D, alchilarea produsului din Schema 2, etapa C, poate fi obținută utilizând o varietate de condiții de alchilare bine cunoscute în literatură. De exemplu, metilarea (3*S*)-3-(4-bromofenil)butanoatului de metil poate fi realizată prin tratament cu aproximativ 1,5-1,75 echivalenți ai unei baze non-nucleofilice cum ar fi *n*-butyllitium într-un solvent adecvat cum ar fi THF anhidru la temperatură scăzută urmată de stingerea anionului rezultat cu aproximativ 1,5-1,6 echivalenți de iodură de metil. Produsul poate fi apoi izolat prin utilizarea tehnicilor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea. Amestecul de reacție poate fi partiționat între apă și un solvent organic adecvat cum ar fi MTBE. Extractele organice combinate pot fi spălate secvențial cu apă, soluție apoasă de NaCl saturată, uscate pe sulfat de magneziu, filtrate și concentrate sub presiune redusă pentru a obține produsul din etapa D, (3*S*, 2*R/S*)-3-(4-bromofenil)-2-metilbutanoat de metil, ca un amestec de diastereomeri adecvat pentru utilizare fără purificare

15 suplimentară.

In Schema 2, etapa E, produsul din Schema 2, etapa D, 3-(4-bromofenil)-2-metilbutanoat de (3*S*, 2*R/S*)-metil ca un amestec de diastereomeri, poate fi tratat cu aproximativ 1 echivalent al unei baze puternic organice cum ar fi *n*-butyllitium într-un solvent organic adecvat cum ar fi THF anhidru la temperatură scăzută. Amestecul rezultat poate fi apoi tratat cu o soluție de aproximativ 0,9 echivalenți de *tert*-butil 2-bromoacetat. Produsul poate fi apoi izolat prin utilizarea tehnicilor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea. Amestecul de reacție poate fi partiționat între apă și un solvent organic adecvat cum ar fi MTBE, și extractele organice combinate pot fi spălate secvențial cu apă și soluție apoasă de NaCl saturată. Extractele organice pot fi uscate pe sulfat de magneziu, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a obține produsul din etapa E, (*S/R*)-2-((*R*)-1-(4-bromofenil)etil)-2-metilsuccinat de 4-(*tert*-butil) 1-metil, ca un amestec de diastereomeri adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară.

20 In Schema 2, etapa F, un amestec de esteri diastereomerici din produsul din Schema 2, etapa E, poate fi hidrolizat în condiții bine cunoscut în stadiul anterior al tehnicii. De exemplu, (*S/R*)-2-((*R*)-1-(4-bromofenil)etil)-2-metilsuccinatul de 4-(*tert*-butil) 1-metil poate fi dizolvat într-un solvent organic adecvat cum ar fi DCM și tratat cu un exces sau un acid organic cum ar fi TFA. Amestecul rezultat poate fi agitat la RT timp de aproximativ 18 ore, și produsul poate fi apoi izolat prin utilizarea tehnicilor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea. Amestecul de reacție

35 poate fi spălat secvențial cu apă și soluție apoasă de NaCl saturată, extractele organice pot fi uscate pe sulfat de magneziu, filtrate și concentrate sub presiune redusă pentru a obține produsul din etapa F, acid (3*S/R*, 4*R*)-4-(4-bromofenil)-3-(metoxycarbonil)-3-metilpentanoic, ca un amestec de diastereomeri adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară.

In Schema 2, etapa G, un amestec de diastereomeri din Schema 2, etapa F, acidul (3*S/R*, 4*R*)-4-(4-bromofenil)-3-(metoxycarbonil)-3-metilpentanoic, poate fi dizolvat într-un solvent polar organic adecvat cum ar fi DMF anhidru și tratat secvențial cu o bază non-nucleofilică cum ar fi aproximativ 3 echivalenți de TEA sau DIPEA, aproximativ 1,2 echivalenți ai unui reactiv de cuplare amidic cum ar fi HATU, și o soluție de amoniac metanolic în exces. Amestecul rezultat poate fi agitat la RT timp de aproximativ 2-12 ore, și produsul poate fi apoi izolat prin utilizarea

45 tehnicilor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea. Amestecul de reacție poate fi partiționat între apă și un solvent organic adecvat cum ar fi DCM, straturile pot fi separate, și extractele organice combinate sunt spălate secvențial cu apă și soluție apoasă de NaCl saturată. Extractele pot fi apoi uscate pe sulfat de magneziu, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a obține produsul din etapa G, (2*S/R*)-4-amino-2-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-2-metil-4-oxo-butanoat de metil, ca un amestec de diastereomeri adecvat pentru utilizare fără purificare

50 suplimentară.

In Schema 2, etapa H, un amestec de produs diastereomeric din Schema 2, etapa G poate fi ciclizat prin încălzire în prezența unei baze non-nucleofilice urmat de separare de diastereomeri în condiții de cromatografie chirală. De exemplu, (2*S/R*)-4-amino-2-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-2-metil-4-oxo-butanoatul de metil poate fi dizolvat într-un amestec de THF/apă (aproximativ 1:1), tratat cu aproximativ 2,5 echivalenți ai unei baze non-nucleofilice cum ar fi carbonat de sodiu, și amestecul rezultat poate fi încălzit la aproximativ 60°C timp de aproximativ 2 ore. Produsul poate fi apoi izolat prin utilizarea tehnicilor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea urmată de separarea diastereomerilor în condiții de cromatografie chirală. De exemplu, amestecul de reacție

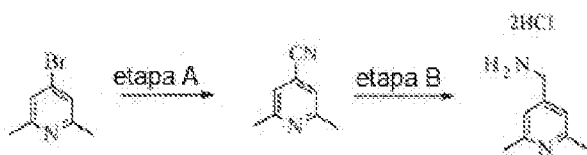
60 este extras cu EtOAc, extractele organice combinate sunt uscate pe sulfat de magneziu, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da un amestec brut de diastereomeri. Diastereomerii pot

fi separați prin tehnologie SFC chirală, utilizând un sistem de solvenți izocratic de EtOH conținând o cantitate mică de amină non-nucleofilă cum ar fi N,N-dietilmetilamină/CO₂ (aproximativ 1:9) pentru a obține produsul separat din etapa H, (3S)-3-[(1R)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă și (3R)-3-[(1R)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă.

5 In Schema 2, etapa I, produsul din etapa H poate fi carbonilat cu amidare *in situ* în condiții bine descrise în domeniu. De exemplu, (3S)-3-[(1R)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă, aproximativ 1,2 echivalenți de (2,6-dimetil-4-piridil)metanaminădiclorhidrat (Schema 3, etapa B), aproximativ 0,033 echivalenți ai unui reactiv metalic tranzițional cum ar fi acetat de paladiu(II), aproximativ 0,064 echivalenți ai unui reactiv ligand adecvat cum ar fi 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanten, și aproximativ 3,5 echivalenți ai unei baze non-nucleofilice cum ar fi DIPEA pot fi suspendate într-un solvent organic nepolar cum ar fi toluen într-un vas de reacție presurizat etanșat până la aproximativ 60 psi sub o atmosferă de monoxid de carbon. Amestecul rezultat poate fi încălzit timp de aproximativ 12-18 ore la 100°C, apoi răcit la RT, filtrat pe un strat de pământ de diatomee, și concentrat sub presiune redusă. Produsul poate fi apoi izolat prin utilizarea tehnicilor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi precipitarea și filtrarea. De exemplu, reziduul brut obținut după evaporarea solventului poate fi diluat cu apă și un solvent organic adecvat cum ar fi DCM (1:1 amestec), și solidul rezultat poate fi colectat prin filtrare și triturat cu dietil eter pentru a da produsul din etapa I, N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirrolidin-3-il]etil} benzamidă.

20

Schema 3



In Schema 3, etapa A, aproximativ 1,0-1,2 echivalenți de Zn(CN)₂ pot fi adăugați la o soluție de 4-bromo-2,6-dimetilpiridină într-un solvent organic polar adecvat cum ar fi DMF conținând aproximativ 5-10% moli ai unui complex catalizator metalic de tranziție/ligand adecvat, cum ar fi tetrakis(trifenilfosfin)paladiu (0). După încălzirea timp de aproximativ 5-18 ore, amestecul de reacție poate fi răcit la RT, și produsul poate fi izolat și purificat utilizând tehnici standard bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metodele de extragere urmate de evaporarea solventului sau prin cromatografie. De exemplu, amestecul de reacție este tratat cu un solvent organic adecvat, cum ar fi EtOAc, și NH₄OH apoasă cu amestecare. Straturile sunt separate, stratul apos este extras cu EtOAc, și straturile organice sunt combinate, uscate pe Na₂SO₄ anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa A. Produsul brut poate fi apoi purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu un amestec de solvenți organici adecvat, cum ar fi hexani/acetat de etil, pentru a furniza produsul 4-ciano-2,6-dimetilpiridină, din etapa A. Alternativ, amestecul de reacție brut poate fi diluat cu un solvent organic adecvat, cum ar fi MTBE, urmat de o soluție apoasă bazică (pH $\square$ 10), cum ar fi 30% NH₄OH, straturile sunt separate, faza apoasă este extrasă suplimentar cu MTBE, și extractele organice combinate sunt spălate cu 10% NH₄OH, uscate pe Na₂SO₄ anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza produsul din etapa A, 4-ciano-2,6-dimetilpiridină, adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară.

40 In Schema 3, etapa B, produsul 4-ciano-2,6-dimetilpiridină din etapa A poate fi redus sub o varietate de metode bine cunoscute în domeniu, cum ar fi reducerea cu hidruură chimică cu un agent reducător cum ar fi LiBH₄ sau NaBH₄ sau prin hidrogenare cu un metal de tranziție cum ar fi Pd(OH)₂ sau Pd pe carbon. Suplimentar, hidrogenarea poate fi efectuată în prezența unui acid mineral în apă sau într-un solvent organic adecvat, cum ar fi THF sau DMF, pentru a furniza produsul redus ca sare de HCl. De exemplu, 4-ciano-2,6-dimetilpiridină, produs în etapa A, este dizolvat într-un solvent organic adecvat cum ar fi MeOH sau EtOH, în prezența HCl în exces fie în apă sau fie în 1,4-dioxan, și soluția este tratată cu 5-10% Pd/C în exces. Amestecul de reacție este supus la hidrogenare sub presiune la aproximativ 60 psi la RT peste noapte. Amestecul este filtrat, și filtratul este concentrat pentru a da produsul brut din etapa B. Precipitarea ulterioară a produsului din etapa B poate fi obținută prin metode bine cunoscute celor calificați în domeniu, cum ar fi triturarea, cristalizarea, sau recristalizarea. De exemplu, produsul brut din etapa B poate fi tratat cu un amestec de EtOH/EtOAc în fierbere până la dizolvare; răcirea ulterioară cu cristalizarea și colectarea produsului prin filtrare poate da produsul 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină diclorhidrat din Etapa B. Alternativ, produsul brut poate fi suspendat într-un amestec

50

de MeOH/MTBE, cu colectarea solidului rezultat, 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină diclorhidrat, produs in etapa B, prin filtrare.

Schema 4



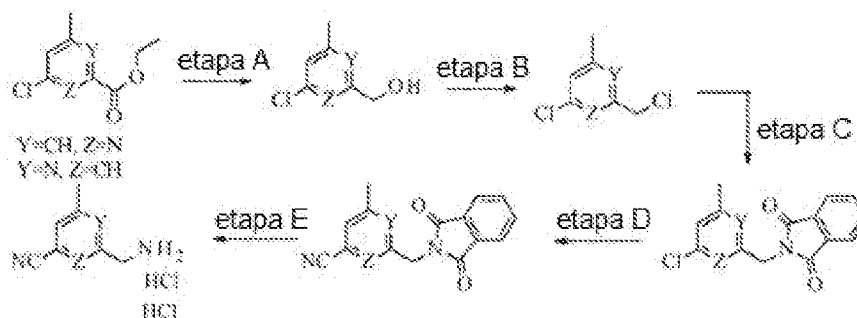
5

R = Et, i-Pr, c-Pr, c-Bu, c-pentil.

Schema 4 ilustrează prepararea de 2-substituit-6-metil-piridilmetanamină. În Schema 4, etapa A, o persoană având calificare obișnuită în domeniu poate aprecia conversia unei 2-cloropiridine la o 2-alkilpiridină utilizând reactiv Grignard, alchillitiu, alchilboronat sau alchilzinc. De exemplu, tratamentul cu aproximativ 3,0-3,6 echivalenți de 2-cloro-6-metilizonicotinonitril (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 20(2), 576-580; 2010) cu aproximativ 1,0-1,5 echivalenți ai unui reactiv Grignard, alchilboronat sau alchilzinc substituit adecvat într-un solvent polar adecvat, cum ar fi NMP sau 1,4-dioxan, sau într-un amestec bifazic dintr-un solvent organic adecvat cum ar fi toluen, benzen, sau DMF conținând apă, în prezența a aproximativ 0,1-0,2 echivalenți ai unui catalizator metalic de tranziție, de exemplu acetoacetat de fier (III) (R=Et), Pd(OAc)₂ în prezența unui ligand fosfină adecvat cum ar fi triciclohexilfosfină tetrafluoroborat, sau [1,1'-bis(difenilfosfino)-ferocen]dicloropaladiu(II) (R= i-Pr, c-Pr, c-Bu, c-pentil) de la aproximativ temperatura camerei până la aproximativ 120°C, dă produsul brut 2-alkil din Schema 4, etapa A, care poate fi izolat și purificat în condiții bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea și cromatografia. De exemplu, reacția este diluată cu apă și filtrată peste un strat de pământ de diatomee, și filtratul este extras cu un solvent organic adecvat cum ar fi EtOAc sau DCM. Extractul organic este uscat pe Na₂SO₄, filtrat, concentrat sub presiune redusă, și purificat prin cromatografie rapidă pe gel de siliciu utilizând hexani sau heptani/EtOAc, pentru a obține 2-alkil-6-metil-4-piridincarbonitrilul dorit, produs in Schema 4, etapa A. Radicalul carbonitril poate fi redus la metilamină sub o matrice de condiții bine apreciate în domeniu. De exemplu, 2-alkil-6-metil-4-piridincarbonitrilul dorit, aproximativ 1 echivalent al produsului din Schema 4, etapa A, poate fi tratat cu nichel Raney în exces sub o atmosferă de hidrogen la 20-60 psi într-un amestec adecvat de solvenți polari, cum ar fi NH₃ în MeOH. Amestecul de reacție poate fi filtrat, concentrat, și reziduul rezultat se triturează secvențial cu un amestec adecvat de solvenți organici, cum ar fi toluen, ACN, MeOH/toluen, și ACN/toluen, cu filtrare ulterioară, pentru a obține substituitul adecvat (2-metil-6-metil-4-piridil)metanamină ca diclorhidrat de sare. Alternativ, produsul brut rezultat poate fi izolat și purificat în condiții bine cunoscute în domeniu, cum ar fi metodele de extragere și cromatografie, pentru a obține substituitul adecvat (2-metil-6-metil-4-piridil)metanamină ca bază liberă.

35

Schema 5



Schema 5 ilustrează prepararea de diclorhidrat de 6-(aminometil)-4-metil-piridin-2-carbonitril. In Schema 5, etapa A, reducerea 2-piridin-carboxilaților de etil poate fi realizată sub o largă matrice de metode bine descrise în domeniu. De exemplu, aproximativ 1 echivalent de etil 6-cloro-4-metilpiridin-2-carboxilat (Y=CH, Z=N) este tratat cu aproximativ 1,7 echivalenți de borohidruță de sodiu în EtOH la RT pentru a obține (6-cloro-4-metil-2-piridil)metanol, produsul din Schema 5, etapa A (Y=CH, Z=N), adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. Halogenarea la halogenura alchil poate fi recunoscută de cineva având calificare obișnuită sub diferite condiții de halogenare. De exemplu, aproximativ 1 echivalent al produsului din Schema 5, etapa A, (6-cloro-4-metil-2-piridil)metanol (Y=CH, Z=N) este tratat cu aproximativ 2 echivalenți

45

de clorură de tionil într-un solvent organic adecvat cum ar fi DCM de CHCl_3 de la aproximativ RT la reflux, și evaporarea solventilor poate da 2-cloro-6-(clorometil)-4-metilpiridina dorită, produsul din Schema 5, etapa B ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$), adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. Produsul din Schema 5, etapa B, 2-cloro-6-(clorometil)-4-metil-piridină ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$), poate fi

5 tratat cu o varietate de amine protejate adecvate pentru a suporta funcționalizarea suplimentară. De exemplu, aproximativ 1 echivalent de ftalimidă de potasiu poate fi tratat cu 2-cloro-6-(clorometil)-4-metil-piridină, produsul din Schema 5, etapa B ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$), într-un solvent polar adecvat cum ar fi DMF. Diluția ulterioară cu apă poate da produsul solid din Schema 5, etapa C ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$), 2-[(6-cloro-4-metil-2-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă, care poate fi izolat prin metode bine

10 cunoscute în domeniu, cum ar fi filtrarea. Radicalul cloro de 2-[(6-cloro-4-metil-2-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă, produs în Schema 5, etapa C ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$), poate fi deplasat cu o gamă largă de nucleofile descrise de asemenea în literatură, cum ar fi prin reacție $\text{S}_{\text{N}}\text{AR}$ sau prin procese mediate de tranziția metalică. De exemplu, aproximativ 1 echivalent al produsului din Schema 5, etapa C ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$), 2-[(6-cloro-4-metil-2-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă, poate fi

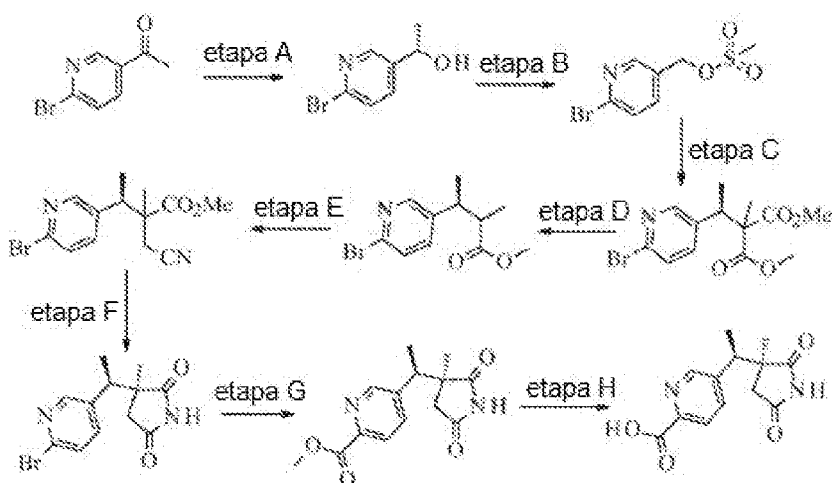
15 tratat cu aproximativ 0,75 echivalenți de cianură de zinc în prezența a aproximativ 0,05 echivalenți de diclorură de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen]paladiu(II) și aproximativ 0,25 echivalenți de zinc elemental într-un solvent organic polar adecvat cum ar fi DMF sau DMSO cu încălzire de la 100-140°C. O persoană calificată în domeniu va recunoaște că produsul acestei transformări poate fi izolat și purificat prin tehnici standard bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea și cromatografia. De exemplu, amestecul de reacție răcit poate fi diluat cu apă și extras cu un solvent

20 adecvat cum ar fi DCM sau EtOAc, spălat secvențial cu NH_4OH și soluție apoasă de NaCl saturată, și extractul organic poate fi uscat pe Na_2SO_4 sau MgSO_4 . Produsul brut rezultat poate fi supus la cromatografie rapidă pe siliciu eluând cu un amestec adecvat de solventi organici, cum ar fi hexani/acetat de etil, pentru a furniza produsul, 6-[(1,3-dioxoizoindolin-2-il)metil]-4-metil-piridin-2-carbonitril, din Schema 5, etapa D ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$). Îndepărtarea grupării amină de protecție poate fi realizată de cineva având calificare obișnuită în domeniu. De exemplu, tratamentul cu aproximativ 1 echivalent de 6-[(1,3-dioxoizoindolin-2-il)metil]-4-metil-piridin-2-

25 carbonitril, produsul din Schema 5, etapa D ($\text{Y}=\text{CH}$, $\text{Z}=\text{N}$), cu aproximativ 2 echivalenți de hidrat de hidrazină într-un solvent organic polar adecvat cum ar fi EtOH sub reflux, poate da amina brută deprotețată după evaporarea solventului. Izolarea ulterioară și purificarea aminei brute poate fi realizată prin tehnici standard cunoscute în domeniu, cum ar fi schimbarea selectivă de cationi și prepararea sării. De exemplu, amina brută poate fi trecută printr-o coloană SCX, eluând cu un amestec de NH_3/MeOH ; fracțiunile de amoniac metanolic pot fi evaporate, reziduul rezultat redizolvat în MeOH, și soluția rezultată tratată cu 2-10 echivalenți de HCl într-un solvent organic

30 adecvat, cum ar fi Et_2O sau 1,4-dioxan, pentru a obține diclorhidratul solid de 6-(aminometil)-4-metil-piridin-2-carbonitril după colectare prin filtrare. Sintezele compușilor, unde $\text{Y}=\text{N}$ și $\text{Z}=\text{CH}$, pot fi efectuate prin metode analoge.

Schema 6



40 Schema 6 ilustrează sinteza de acid 5-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]piridin-2-carboxylic. În Schema 2, etapa A, 1-(6-bromopiridin-3-il)etanona poate fi redusă stereoselectiv prin hidrogenare în prezența unei matrice de catalizator metalic de tranziției. De exemplu, aproximativ 1 echivalent de 1-(6-bromopiridin-3-il)etanonă într-un solvent polar

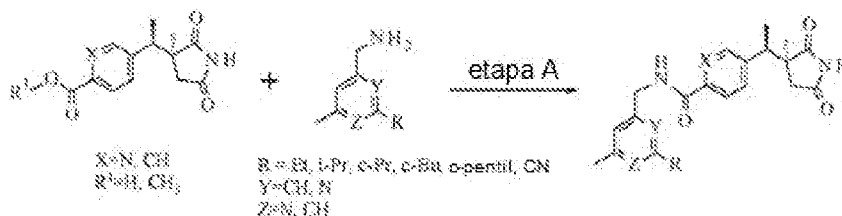
45 adecvat, cum ar fi EtOH:2-propanol (aproximativ 1,2 mL:1 mL) este tratat cu aproximativ 0,00075 echivalenți de cloro{(*R*)-(+)-2,2'-bis[di(3,5-xylyl)fosfino]-1,1'-binaftil}[(2*R*)-(-)-1-(4-metoxifenil)-

1-(4-metoxifenil-kC)-3-metil-1,2-butanediamină]ruteniu(II) [(R)-RUCY™-XylBINAP] și aproximativ 0,0075 echivalenți KO^tBu într-un vas de hidrogenare adecvat etanșat și evacuat. Sistemul este apoi umplut cu hidrogen și agitat la aproximativ RT timp de aproximativ 6 ore. Produsul brut este izolat și purificat utilizând tehnici standard bine cunoscute în domeniu, cum ar fi filtrarea, îndepărtarea solventului și cromatografia. De exemplu, amestecul de reacție este filtrat, evaporat sub presiune redusă pentru a furniza produsul brut din etapa A. Produsul brut poate fi apoi purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu un amestec adecvat de solvenți organici, cum ar fi DCM/MTBE, pentru a furniza (1S)-1-(6-bromopiridin-3-il)etanolul din Schema 6, etapa A.

În Schema 6, etapa B, produsul din Schema 6, etapa A, (1S)-1-(6-bromopiridin-3-il)etanol, este dizolvat într-un solvent organic adecvat cum ar fi DCM și tratat cu aproximativ 1,3 echivalenți ai unei baze organice adecvate, non-nucleofilică cum ar fi TEA la aproximativ 0°C. Se adaugă aproximativ 1,2 echivalenți ai unui reactiv adecvat de sulfonilare, cum ar fi clorura de metansulfonil, și produsul este izolat și purificat utilizând tehnici standard bine cunoscute în domeniu, cum ar fi extragerea. De exemplu, amestecul de reacție este tratat cu apă, și straturile sunt separate; stratul apos este extras de două ori cu DCM, straturile organice sunt combinate, spălate cu NaHCO₃ apoasă saturată, uscate pe Na₂SO₄ anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza metansulfonatul de (1S)-1-(6-bromopiridin-3-il)etil din Schema 6, etapa B, care poate fi utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Schema 6, etapele C-H, sunt efectuate în condiții analoge cu cele descrise în Schema 1, etapele A-F, pentru a obține acidul 5-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]piridin-2-carboxilic necesar.

Schema 7



Schema 7 ilustrează prepararea de compuși succinimidă carboxamidă, în care acidul carboxilic adecvat poate fi cuplat la o piridilamină sau diclorhidrat de piridilaină adecvate sub o matrice de condiții de cuplare amidice bine cunoscute în domeniu. De exemplu, reacția de cuplare amidică poate fi efectuată în mod analog cu cea reprezentată în Schema 1, etapa F, sau poate fi efectuată cu astfel de agenți de cuplare ca HOBt, HOAT, HATU, sau T3P, dintre mulți alții bine descriși în literatură. Alternativ, cuplarea amidică poate fi efectuată pe ester carboxilic (R¹=CH₃) sub o varietate de condiții bine cunoscute în domeniu, incluzând, dar fără a se limita la, încălzirea unui amestec de ester carboxilic adecvat și de piridilamină sau sare de piridilamină adecvate (*de exemplu*, diclorhidrat) la o temperatură de aproximativ 150-170°C într-un vas etanșat într-un solvent organic nepolar adecvat cum ar fi toluen sau xilen.

Preparări și Exemple

Următoarele Preparări și Exemple ilustrează mai departe invenția și reprezintă sinteza tipică a compusului invenției. Reactivii și materiile prime sunt cu ușurință disponibile sau pot fi cu ușurință sintetizate de cineva având calificare obișnuită în domeniu. Trebuie să se înțeleagă că Preparările și Exemplele sunt stabilite cu scop de ilustrare, și că diferite modificări pot fi făcute de cineva având calificare obișnuită în domeniu.

Configurația R- sau S- a compusului invenției poate fi determinată prin tehnici standard cum ar fi analiza cu raze X și corelația cu HPLC chirală a timpului de retenție.

LC-ES/MS este efectuată pe un sistem de cromatografie pe lichide AGILENT® HP1100. Măsurătorile de spectrometrie de masă prin electropulverizare (dobândite în mod pozitiv și/sau negativ) sunt efectuate pe un spectrometru de masă cvadripol cu detector selectiv de masă interfațat cu HPLC HP1100. Condițiile LC-MS (pH scăzut): coloană: FENOMENEX® GEMINI® NX C18 2,1 × 50 mm 3,0 μm, gradient: 5-100% B în 3 min, apoi 100% B timp de 0,75 min, temperatura coloanei: 50°C +/-10°C; debit: 1,2 mL/min; solvent A: apă deionizată cu 0,1% HCOOH; solvent B: ACN cu 0,1% acid formic; lungime de undă 214 nm. Condiții LC-MS alternate (pH ridicat): coloană: coloană XTERRA® MS C18 2,1×50 mm, 3,5 μm; gradient: 5% solvent A timp de 0,25 min, gradient de la 5% până la 100% solvent B în 3 min și 100% solvent B timp de 0,5 min sau 10% până la 100% solvent B în 3 min și la 100% solvent B timp de 0,75 min;

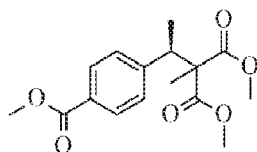
temperatura coloanei: 50°C +/-10°C; debit: 1,2 mL/min; solvent A: 10 mM NH₄HCO₃ pH 9; solvent B: ACN; lungime de undă: 214 nm.

Cromatografia preparativă cu fază inversă este efectuată pe un LC-ES/MS AGILENT® 1200 echipat cu un spectrometru de masă cu detector selectiv de masă și un colector de autoeșantionare/fracțiune LEAP®. Metodele cu pH ridicate sunt rulate pe o coloană 75 x 30 mm FENOMENEX® GEMINI®-NX, 5 μ dimensiunea particulei cu o gardă de 10 x 20 mm. Debit de 85 mL/min. Eluentul este 10 mM bicarbonat de amoniu (pH 10) în acetonitril.

Spectrele RMN sunt efectuate pe un spectrometru RMN Bruker A VIII HD 400 MHz, obținut ca soluții de CDCl₃ sau (CD₃)₂SO raportate în ppm, utilizând solvent rezidual [CDCl₃, 7,26 ppm; (CD₃)₂SO, 2,05 ppm] ca standard de referință. Când sunt raportate multiplicități de maxime, pot fi utilizate următoarele abrevieri: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (cvartet), m (multiplet), brs (singlet mare), dd (dublet de dubleți), dt (dublet de tripleți). Constantele de cuplare (J), când sunt raportate, sunt raportate în hertz (Hz).

Preparare 1

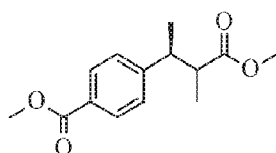
{(1R)-1-[4-(metoxycarbonil)fenil]etil}(metil)propandioat de dimetil



Schema 1, etapa A: la o soluție agitată de 2-metilpropandioat (12,2 g, 82,9 mmol) și 4-{(1S)-1-[(metilsulfonil)oxi]etil}benzoat de metil (21,8 g, 75,4 mmol) în DMF (150 mL) sub azot la 0°C se adaugă Cs₂CO₃ (32,2 g, 98,0 mmol). Amestecul de reacție este bine purjat cu azot, agitat la 0°C timp de 1 oră, și încălzit gradual la temperatura ambiantă. Se adaugă DCM și NaHCO₃ apoasă saturată și straturile sunt separate. Stratul apos este extras de două ori cu DCM. Straturile organice sunt combinate, uscate pe Na₂SO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da un ulei galben. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/acetat de etil (gradient de la 49:1 până la 7:3). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (22,62 g, 93%). LC-ES/MS (m/z): 309,0 (M+H). ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,37 (s, 3H), 1,39 (d, J= 7,1 Hz, 3H), 3,59 (s, 3H), 3,74 (s, 3H), 3,74 (q, J= 7,1 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 7,25-7,30 (m, 2H), 7,91-7,96 (m, 2H).

Preparare 2

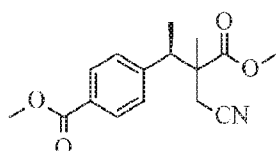
4-[(2S)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoat de metil



Schema 1, etapa B: la o soluție agitată de {(1R)-1-[4-(metoxycarbonil)fenil]etil}(metil)propandioat de dimetil (22,6 g, 73,7 mmol) în dimetilsulfoxid (200 mL)/apă (4,67 mL) sub azot la RT se adaugă NaCl (5,58 g, 95,4 mmol). Flaconul de reacție este plasat într-o baie cu ulei și încălzit la 190°C peste 50 min și reacția rezultată este menținută la 190°C timp de 3,5 ore, timp în care TLC (30% EtOAc / Hexan) a prezentat dispariția materiei prime. După răcirea la RT, reacția este diluată cu apă (400 mL) și extrasă cu Et₂O (3 x 150 mL). Extractul este spălat cu soluție apoasă de NaCl saturată, uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da un ulei maro. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/acetat de etil (gradient de la 19:1 până la 4:1). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (13,35 g, 72%) ca un amestec de diastereomeri. LC-ES/MS (m/z): 251,0 (M+H).

Preparare 3

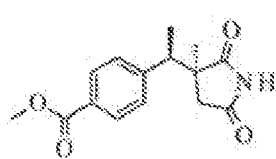
4-[(2R)-3-(cianometil)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoat de metil



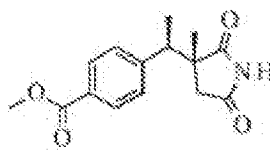
Schema 1, etapa C: o soluție de LDA [proaspăt preparată din diizopropil amină (11,3 mL, 80,4 mmol) și *n*-butyllitium (2,5 M în hexan, 32,2 mL, 80,4 mmol)] este răcită la -75°C sub azot. O soluție de 4-[(2*S*)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoat de metil (18,3 g, 73,1 mmol) în THF (50 mL) se adaugă în picătură la soluția LDA peste 40 min. Amestecul de reacție este lăsat să stea la -75°C timp de 75 min înainte de adăugarea unei soluții de bromoacetonitril (7,87 mL, 110 mmol)/THF (20 mL) în picătură, peste 12 min. Amestecul de reacție este lăsat să se încălzească încet la RT și s-a agitat peste noapte. După stingerea cu NH₄Cl apoasă saturată, reacția este extrasă cu EtOAc (3 x 100 mL). Extractul este spălat cu soluție apoasă de NaCl saturată, uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da un ulei de culoare închisă. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/acetat de etil (gradient de la 19:1 până la 3:2). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (12,08 g, 57%) ca un amestec de diastereomeri. LC-ES/MS (*m/z*): 307,0 (M+NH₄⁺).

Preparare 4

4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoat de metil (diastereomer major) și 4-[(1*R*)-1-[(3*R*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoat de metil (diastereomer minor)



Diastereomer major



Diastereomer minor

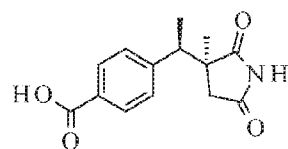
Schema 1, etapa D: 4-[(2*R*)-3-(cianometil)-4-metoxi-3-metil-4-oxobutan-2-il]benzoat de metil curat (33,4 g, 115 mmol) este răcit într-o baie de apă/gheață și tratat în picătură cu H₂SO₄ concentrat (66,8 mL, 1180 mmol) peste o perioadă de 20 min. Baia rece este îndepărtată și reacția este agitată la RT timp de 3 ore. Amestecul de reacție este apoi răcit într-o baie de apă/gheață, stins cu apă cu gheață (400 mL), și extras cu DCM (2 x 250 mL). Extractul este spălat cu apă, uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da amida brută intermediară ca spumă galbenă. Intermediarul brut este dizolvat în THF (200 mL) și apă (200 mL), tratat cu Na₂CO₃ (30,7 g, 289 mmol), și încălzit la 50°C timp de 5 ore. După răcirea într-o baie de apă/gheață, amestecul de reacție este acidulat la pH ≈ 2 cu 5 N HCl apos și extras cu EtOAc (2 x 150 mL). Extractul este spălat cu soluție apoasă de NaCl saturată, uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da o spumă galbenă. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/acetat de etil (gradient de la 9:1 până la 1:1). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da diastereomerul major ca primul material eluat, 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoat de metil, (17,23 g, 54%) și diastereomerul minor ca al doilea material eluat, 4-[(1*R*)-1-[(3*R*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoat de metil, (5,01 g, 16%).

Izomerul major: ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,23 (s, 3H), 1,35 (d, J= 7,1 Hz, 3H), 2,22 (d, J= 18,4 Hz, 1H), 3,01 (d, J= 18,4 Hz, 1H), 3,24 (q, J= 7,1 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 7,24-7,29 (m, 2H), 7,86 (br s, 1H), 7,97-8,02 (m, 2H).

Izomerul minor: ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,38 (d, J= 7,2 Hz, 3H), 1,44 (s, 3H), 2,35 (d, J= 18,5 Hz, 1H), 2,83 (d, J= 18,5 Hz, 1H), 3,33 (q, J= 7,2 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 7,25-7,30 (m, 2H), 7,46 (br s, 1H), 7,92-7,97 (m, 2H).

Preparare 5

Acid 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic

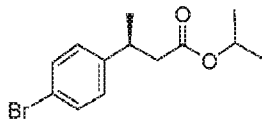


Schema 1, etapa E: se adaugă monohidrat de hidroxid de litiu (3,16 g, 75,3 mmol) la o soluție de 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoat de metil (6,91 g, 25,1 mmol) dizolvat în THF (84 mL) și apă (36 mL). După agitare la RT timp de 16 ore, amestecul de reacție este acidulat la pH ≈ 2 cu HCl 1N apos și THF îndepărtat *in vid*. Solidul rezultat este colectat prin filtrare și uscat într-un cuptor cu vid la 45°C pentru a da compusul din titlu (5,96 g,

91%). ^1H RMN (DMSO-d_6): δ 1,06 (s, 3H), 1,22 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 2,16 (d, $J = 18,2$ Hz, 1H), 3,02 (d, $J = 18,2$ Hz, 1H), 3,12 (q, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,39-7,45 (m, 2H), 7,84-7,89 (m, 2H), 11,22 (s, 1H), 12,85 (br s, 1H).

Preparare 6

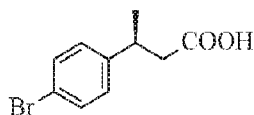
5 (3S)-3-(4-bromofenil)butanoat de izopropil



Schema 2, etapa A: la o soluție dezoxigenată de acid (4-bromofenil)boronic (110 g, 547,73 mmol) în 1,4-dioxan (750 mL) sub atmosferă de N_2 se adaugă tetrafluorborat de bis(norbornadien)rodiu(I) (2 g, 5,13 mmol) urmat de (*R*)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (4,5 g, 7,2 mmol). Amestecul este lăsat să stea la temperatura camerei timp de 1 oră înainte de adăugarea de H_2O (100 mL), TEA (70 mL, 502 mmol), și (*E*)-but-2-enoat de izopropil (65 g, 507,14 mmol). Soluția roșie rezultată este încălzită la 40°C timp de 18 ore. Amestecul de reacție este concentrat sub presiune redusă la jumătate de volum și diluat cu 500 mL MTBE. Soluția organică este spălată cu 500 mL apă, uscată pe Na_2SO_4 , filtrată, și concentrată la sec sub presiune redusă. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/EtOAc (gradient de la 1:0 până la 9:1). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (144 g, 94,6%, 94,5% ee). Enantiomerul major $t_R = 2,20$ min; enantiomerul minor $t_R = 2,69$ min (Chiral SFC Lux Amylose-2, 5% MeOH/ CO_2 , 5 mL/min, 225 nm). ^1H RMN (DMSO-d_6) δ 1,05 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,10 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,19 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 2,48-2,59 (m, 2H), 3,08-3,19 (m, 1H), 4,74-4,84 (m, 1H), 7,20-7,24 (m, 2H), 7,44-7,48 (m, 2H).

Preparare 7

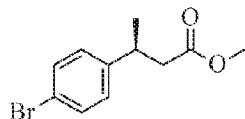
25 Acid (3S)-3-(4-bromofenil)butanoic



Schema 2, etapa B: la o soluție de (3S)-3-(4-bromofenil)butanoat de izopropil (1042 g, 3471,0 mmol) în MeOH (8 L) se adaugă 5 M NaOH apoasă (2 L) în timp ce se agită la RT. Masa de reacție este încălzită la 50°C sub atmosferă de N_2 timp de 40 min. După răcirea până la 30°C , amestecul de reacție este concentrat sub presiune redusă și reziduul este diluat cu 2 L apă. Amestecul apos rezultat este extras o dată cu DCM (□ 2 L). Stratul apos este tratat cu □ 1 kg de gheață și acidulat la pH □ 4 cu HCl concentrat (1 L) prin adăugare lentă în decursul a 20 min. Stratul apos tulbure este apoi extras cu DCM (□ 4 L). Stratul organic este uscat pe Na_2SO_4 , filtrat, și concentrat sub presiune redusă la un ulei arămiu clar care s-a solidificat la un solid alburiu. Se adaugă heptan (□ 4 L) la solid și amestecul rezultat este încălzit la 45°C timp de 2 ore după care s-a precipitat un solid. Solidele sunt colectate prin filtrare și spălate cu heptan (200-250 mL). Filtratul este apoi concentrat la sec sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu ca un solid alburiu (771 g, 91,4%, 99% ee). LC-ES/MS (m/z): 241,0 (M-H). Enantiomerul major $t_R = 2,35$ min; enantiomerul minor $t_R = 2,82$ min (Chiral SFC Lux Amylose-2, 5% MeOH/ CO_2 , 5 mL/min, 225 nm). ^1H RMN (DMSO-d_6) δ 1,19 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 2,48-2,52 (m, 2H), 3,07-3,17 (m, 1H), 7,20-7,25 (m, 2H), 7,44-7,49 (m, 2H), 12,08 (s, 1H). $[\alpha]_D^{25} +25,0^\circ$ ($c = 1$, MeOH).

Preparare 8

45 (3S)-3-(4-bromofenil)butanoat de metil



Schema 2, etapa C: se adaugă H_2SO_4 concentrat (45 mL, 802 mmol) la o soluție de acid (3S)-3-(4-bromofenil)butanoic (450 g, 1851,1 mmol) în MeOH (4,5 L). Amestecul este încălzit la 65°C timp de 2 ore, răcit la RT, și concentrat sub presiune redusă la un reziduu uscat. Solidul este diluat cu MTBE (2,5 L) și H_2O (2,5 L) și amestecul rezultat este extras cu MTBE (2 x 2,5 L).

Extratele combinate sunt spălate cu H₂O (2,5 L), uscate pe MgSO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu ca ulei galben deschis (469,8 g, randament cantitativ) care poate fi utilizat fără purificare suplimentară. LC-ES/MS (m/z): 274,0 (M+NH₄⁺). ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,27 (d, J= 7,0 Hz, 3H), 2,50-2,62 (m, 2H), 3,20-3,30 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 7,07-7,12 (m, 2H), 7,39-7,43 (m, 2H).

Preparare 9

3-(4-bromofenil)-2-metilbutanoat de (3S, 2R)-metil și

3-(4-bromofenil)-2-metilbutanoat de (3S, 2S)-metil



Diastereomer major

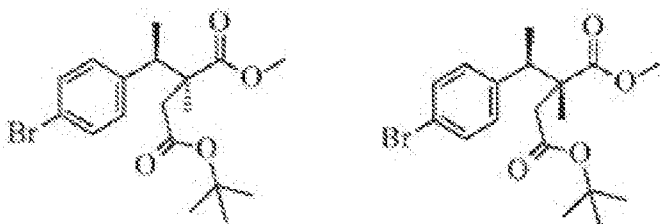
Diastereomer minor

Schema 2, etapa D: o soluție 2,5 M de n-BuLi în hexani (1250 mL) se adaugă în picătură la o soluție de DIPEA (444 mL, 3150 mmol) în THF anhidru (2,3 L) la -40°C în 30 min. După 30 min, o soluție de (3S)-3-(4-bromofenil)butanoat de metil (468,90 g, 1750,7 mmol) în THF anhidru (3,3 L) se adaugă peste 40 min, și amestecul de reacție este lăsat să stea timp de 40 min la -40°C. Se adaugă CH₃I (176 mL, 2798 mmol) în 30 min și amestecul este agitat timp de 15 min la -40°C. Amestecul de reacție este stins încet la -40°C cu MeOH (283 mL) urmat de H₂O (2,5 L) și amestecul este lăsat să se încălzească la RT. Amestecul de reacție este diluat cu H₂O (2,5 L) și straturile rezultate sunt separate. Stratul apos este extras suplimentar cu MTBE (7,5 L) și extratele organice combinate sunt spălate secvențial cu H₂O (3 L) și soluție apoasă de NaCl saturată (2,5 L). Extratele organice sunt uscate pe MgSO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu ca un amestec de diastereomeri (7:3) ca ulei maro deschis (489 g, 93%) care poate fi utilizat fără purificare suplimentară. Diastereomerul major t_R= 1,29 min; diastereomerul minor t_R= 1,32 min (coloană XBRIDGE® C18, 3,5 m, 2,1 x 50 mm, 1,2 mL/min, 50°C, 10-95% 10 mM NH₄CO₃ (pH 10) în ACN). LC-ES/MS (m/z pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br): 288,0, 290,0 (M+NH₄⁺).

Preparare 10

(S)-2-((R)-1-(4-bromofenil)etil)-2-metilsuccinat de 4-(terț-butil) 1-metil și

(R)-2-((R)-1-(4-bromofenil)etil)-2-metilsuccinat de 4-(terț-butil) 1-metil



Diastereomer major

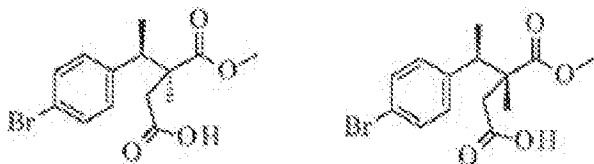
Diastereomer minor

Schema 2, etapa E: se adaugă o soluție 2,5 M de n-BuLi în hexani (1150 mL, 2900 mmol) peste 20 min la o soluție de DIPEA (410 mL, 2910 mmol) în THF anhidru (3 L) la -40°C. Amestecul rezultat este agitat la -40°C timp de 30 min, și se adaugă o soluție dintr-un amestec de diastereomeri (2R/S,3S)-3-(4-bromofenil)-2-metil-butanoat de metil (488,00 g, 1619,8 mmol) în THF anhidru (3 L) într-o perioadă de 1 oră. Amestecul de reacție este lăsat să stea timp de 45 min la -40°C, și se adaugă o soluție de 2-bromoacetat de terț-butil (391 mL, 2596 mmol) în THF anhidru (250 mL) peste 30 min. Amestecul rezultat este agitat timp de încă 30 min la -40°C. Se adaugă MeOH (250 mL) urmat de H₂O (2,5 L), și amestecul rezultat este lăsat să se încălzească la RT. Amestecul este diluat cu H₂O (2,5 L) și straturile rezultate sunt separate. Stratul apos este extras cu MTBE (5 L), și extractul organic este spălat secvențial cu H₂O (5 L) urmat de soluție apoasă de NaCl saturată (2,5 L), uscat pe MgSO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu ca un amestec de diastereomeri ca ulei maro gros (786 g, 87%) care poate fi utilizat fără purificare suplimentară. Diastereomerul major t_R= 1,51 min; diastereomerul minor t_R= 1,53 min (coloană XBRIDGE® C18, 3,5 m, 2,1 x 50 mm, 1,2 mL/min, 50°C, 10-95% 10 mM NH₄CO₃ (pH 10) în ACN). LC-ES/MS (m/z pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br): 328,8, 330,8 (M-tBu+H).

Preparare 11

Acid (3*S*,4*R*)-4-(4-bromofenil)-3-(metoxycarbonil)-3-metilpentanoic și acid (3*R*,4*R*)-4-(4-bromofenil)-3-(metoxycarbonil)-3-metilpentanoic

5



Diastereomer major

Diastereomer minor

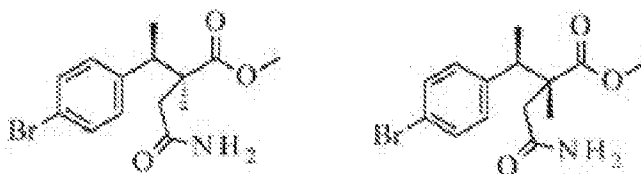
Schema 2: etapa F: o soluție dintr-un amestec de diastereomeri (*R/S*)-2-((*R*)-1-(4-bromofenil)etil)-2-metilsuccinat de 4-(terț-butil) 1-metil (785 g, 1406 mmol) în DCM (6 L) este tratată cu TFA (1,06 L) și agitată la RT timp de 18 ore. Amestecul de reacție este spălat secvențial cu H₂O (2 x 5 L) și soluție apoasă de NaCl saturată (5 L). Extractele organice sunt uscate pe MgSO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu ca un amestec de diastereomeri (8:2) ca gumă maro închis (604 g, 91%) care poate fi utilizată fără purificare suplimentară. LC-ES/MS (*m/z* pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br): 329,0, 331,0 (*M*+*H*).

10

Preparare 12

(2*S*)-4-amino-2-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-2-metil-4-oxo-butanoat de metil și (2*R*)-4-amino-2-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-2-metil-4-oxo-butanoat de metil

15



Diastereomer major

Diastereomer minor

20

Schema 2, etapa G: la un amestec de diastereomeri de acid (3*R/S*,4*R*)-4-(4-bromofenil)-3-metoxycarbonil-3-metilpentanoic (603g, 1282 mmol) și TEA (550 mL, 3870 mmol) în DMF anhidră (4 L) la 0°C se adaugă HATU (597 g, 1538,69 mmol) peste 15 min. Amestecul de reacție este lăsat să stea la temperatura camerei timp de 2 ore. Se adaugă o soluție de 7 M NH₃/MeOH (1,83 L) în 30 min la 10°C, și amestecul rezultat este încălzit la RT și agitat timp de 1 oră. Amestecul de reacție este răcit la 10°C și apoi diluat încet cu DCM (5 L) urmat de H₂O (5 L). Straturile rezultate sunt separate, și stratul apos este extras suplimentar cu DCM (2,5L). Extractele combinate sunt spălate secvențial cu H₂O (5L) și soluție apoasă de NaCl saturată (5 L), uscate pe MgSO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu ca un amestec de diastereomeri (8:2) ca gumă închisă (520 g, 87%) care poate fi utilizată fără purificare suplimentară. Diastereomerul major *t_R* = 0,97 min; diastereomerul minor *t_R* = 0,99 min (coloană XBRIDGE® C18, 3,5 m, 2,1 x 50 mm, 1,2 mL/min, 50°C, 10-95% 10 mM NH₄CO₃ (pH 10) în ACN). LC-ES/MS (*m/z* pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br) 328,0/330,0 (*M*+*H*/*M*+*H*+2).

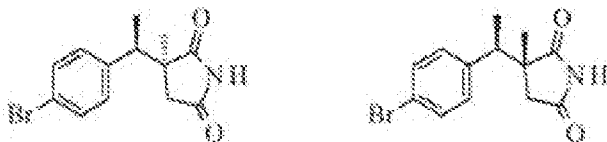
25

30

Preparare 13

(3*S*)-3-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă și (3*R*)-3-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă

35



Diastereomer major

Diastereomer minor

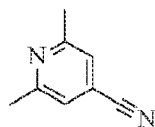
40

Schema 2, etapa H: la un amestec de diastereomeri de (2*R/S*)-4-amino-2-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-2-metil-4-oxo-butanoat de metil (519g, 1107 mmol) dizolvat în THF (4,2 L) și H₂O (4,2 L) se adaugă Na₂CO₃ (293 g, 2764,46 mmol) și amestecul este încălzit la 60°C timp de 2

ore. Reacția este răcită la RT și extrasă cu EtOAc (2,5 L). Stratul organic este spălat cu H₂O (3 L). Extractul apos rezultat este extras cu EtOAc (5 L) și extractele organice combinate sunt uscate pe MgSO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da un amestec brut de doi diastereomeri care sunt separați prin SFC [coloană: AS-H, 150 x 50mm; 10% EtOH (0,2% DEMA), 340 g/min; BPR 150 bar; vol. inj.: 4 ml; 220 nm]. (3*R*)-3-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă: primul compus eluat (43,8g, 11%). LC-ES/MS (m/z pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br): 313,0, 315,0 (M+H). ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,33 (d, J= 7,2 Hz, 3H), 1,40 (s, 3H), 2,34 (d, J= 18,4 Hz, 1H), 2,80 (, J= 18,4 Hz, 1H), 3,23 (q, J= 7,2 Hz, 1H), 7,07 (d, 2H), 7,40 (d, 2H), 7,54 (br-s, 1H). (3*S*)-3-[(1*R*)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă: al doilea compus eluat (241,8 g, 55%). LC-ES/MS (m/z pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br): 313,0, 315,0 (M+H). ¹H RMN (CDCl₃): 1,23 (s, 3H), 1,30 (d, J= 7,1 Hz, 3H), 2,21 (d, J= 18,4 Hz, 1H), 2,96 (d, J= 18,4 Hz, 1H), 3,14 (q, J= 7,1 Hz, 1H), 7,04-7,09 (m, 2H), 7,42-7,48 (m, 2H), 8,09 (br-s, 1H).

Preparare 14

2,6-Dimetilpiridin-4-carbonitril



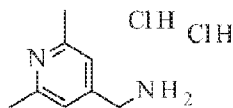
Schema 3, etapa A: se adaugă cianură de zinc (3,82g, 31,9 mmol) la un amestec de 4-bromo-2,6-dimetilpiridină (5,09 g, 26,5 mmol) și DMF (40 mL) și se agită sub azot la RT. Azotul este barbotat prin suspensia agitată timp de 15 min, și se adaugă tetrakis(trifenilfosfin) paladiu(0) (1,54 g, 1,33 mmol). După încălzirea amestecului de reacție la 120°C timp de 5,5 ore, amestecul este răcit la RT și diluat cu EtOAc (150 mL). Solidele sunt îndepărtate prin filtrare cu hârtie și turta de filtru este spălată cu EtOAc (50 mL). Organicele combinate filtrate și spălate se spală secvențial cu 15% NH₃ apoasă (2 x 50 mL), apă (50 mL) și soluție apoasă de NaCl saturată, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează sub presiune redusă pentru a da un solid galben. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/acetat de etil (gradient de la 9:1 până la 1:1). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (2,79 g, 77%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 2,61 (s, 6H), 7,21 (s, 2H).

Procedură alternativă pentru Preparare 14

Schema 3, etapa A: 4-bromo-2,6-dimetilpiridina (235,0 g, 1263,1 mmol) este dizolvată în DMF anhidră (250 mL) într-un balon cu fund rotund, cu trei gaturi echipat cu un agitator mecanic, condensator de reflux, și admisie de N₂ și N₂ este barbotat prin soluție timp de 20 min. O porțiune de soluție (□150 mL) este transferată la o pâlnie de adăugare printr-o canulă sub N₂. Se adaugă cianură de zinc (150,0 g, 1277,4 mmol) și tetrakis(trifenilfosfin)paladiu (0) (15,0 g, 13,0 mmol) la amestecul de reacție și se stropește prin barbotarea N₂ în amestec timp de 15 min. Amestecul de reacție este încălzit la 90°C. Se adaugă în picătură soluția DMF de 4-bromo-2,6-dimetilpiridină în 30 min și încălzirea este continuată peste noapte. Amestecul este răcit la RT, se adaugă MTBE (□2 L), urmată de apă (1,5 L) și 30% NH₄OH apoasă (800 mL); amestecul rezultat este agitat la RT timp de 30 min. Straturile sunt separate, stratul apos este extras o dată cu MTBE (□2 L); fazele organice sunt combinate, spălate o dată cu 10% NH₄OH apoasă (2 L), uscate pe Na₂SO₄, filtrate, și filtratul este evaporat sub presiune redusă pentru a obține compusul brut din titlu (153 g, randament 91,7%) ca solid galben pal, contaminat cu □10% produs secundar de trifenilfosfină, care este adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ¹H RMN (CDCl₃): δ 2,61 (s, 6H), 7,21 (s, 2H).

Preparare 15

Diclorhidrat de 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină



Schema 3, etapa B: o soluție de 2,6-dimetilpiridin-4-carbonitril (2,26 g, 16,7 mmol) în EtOH (40 mL) se adaugă la o suspensie de 10% Pd pe carbon (405 mg), EtOH (10 mL), și HCl apos concentrat (6,9 mL). Vasul de reacție este evacuat, umplut cu azot, și se introduce H₂ (55 psi), cu agitarea ulterioară a amestecului de reacție la RT timp de 16 ore. Amestecul de reacție este filtrat prin pământ de diatomee. Turta de filtru este spălată cu MeOH și filtratele combinate sunt

concentrate pentru a da un solid galben. Materialul brut este triturat cu 30% EtOH/EtOAc fiert, răcit la RT, și colectat prin filtrare pentru a da compusul din titlu (2,64 g, 75%). LC-ES/MS (m/z): 137,0 (M+H).

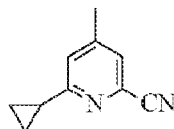
Procedură alternativă pentru Preparare 15

- 5 Schema 3, etapa B: Următoarele pot fi rulate în două loturi și cele două loturi combinate după completarea reacției de hidrogenare: se adaugă 2,6-dimetilpiridin-4-carbonitril (77,39 g, 527,0 mmol) la o autoclavă Parr de 2 L, echipată cu un agitator mecanic, conținând un amestec de 10% Pd/C (45,8 g) în MeOH (800 mL) și o soluție 4M de HCl în dioxan (500 mL). Autoclava este etanșată, amestecul rezultat este purjat bine cu N₂ urmat de H₂, și presurizat cu H₂ până la 60 psi
- 10 cu agitare la RT peste noapte. Amestecul de reacție este filtrat și filtratul este evaporat sub presiune redusă. Se adaugă MeOH (□ 250 mL) la reziduul rezultat și se agită timp de 15 ore, și se adaugă încet MTBE (2,5 L). Amestecul este agitat la RT timp de 1 oră, filtrat, și solidele sunt spălate cu MTBE (1 L). Solidele sunt uscate *in vid* la RT peste noapte pentru a obține compusul din titlu ca solid galben pal (217,0 g, randament 91,6%, combinație de două rulări), adecvat pentru
- 15 utilizare fără purificare suplimentară. LC-ES/MS (m/z): 137,2 (M+H), puritate 92,5%, cu 7,5% impurități de trifenilfosfină prezente (1,57 min, m/z: 263,0).

Preparare 16

6-ciclopropil-4-metil-piridin-2-carbonitril

20

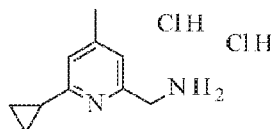


- Schema 4, etapa A: se adaugă acid ciclopropilboronic (1,98g, 21,9 mmol) la un amestec de 6-cloro-4-metil-piridin-2-carbonitril (US 20140256734 A1, 2,15 g, 13,7 mmol), K₃PO₄ (5,98g, 27,3 mmol), toluen (40mL) și apă (2 mL) agitându-se sub azot la RT. Azotul este barbotat prin
- 25 suspensia agitată timp de 10 min, și se adaugă acetat de paladiu(II) (0,313 g, 1,37 mmol) și tetrafluoroborat de triciclohexilfosfoniu (1,02g, 2,73 mmol). După încălzirea amestecului de reacție sub azot la 110°C timp de 15,5 ore, amestecul este răcit la RT și diluat cu EtOAc (50 mL). Solidele sunt îndepărtate prin filtrare cu pământ de diatomee și turta de filtru este spălată cu EtOAc (20 mL). Organicile combinate filtrate și spălate se spală cu soluție apoasă de NaCl
- 30 saturată, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează sub presiune redusă pentru a da un ulei chihlimbării. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/acetat de etil (gradient de la 50:1 până la 2:1). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (1,52 g, randament 70%). LC-ES/MS (m/z): 159,0 (M+H).

Preparare 17

Diclorhidrat de (6-ciclopropil-4-metil-2-piridil)metanamină

40

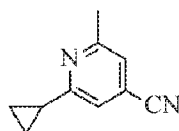


- Schema 4, etapa B: se prepară din 6-ciclopropil-4-metil-piridin-2-carbonitril (1,52g, 9,63mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 15 pentru a obține compusul din titlu (1,86 g, randament 82%). LC-ES/MS (m/z): 163,0 (M+H).

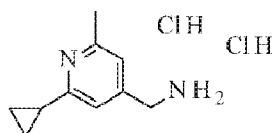
Preparare 18

2-ciclopropil-6-metil-piridin-4-carbonitril AG2-E14219-088

45



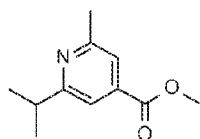
- Schema 4, etapa A: se prepară din 2-cloro-6-metil-piridin-4-carbonitril (J. Med. Chem., 59(1), 313-327, 2016, 2,0 g, 12,7 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 16
- 50 pentru a da compusul din titlu (1,66 g, randament 82%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,05-1,06 (m, 4H) 2,03-2,09 (m, 1H), 2,54 (s, 3H), 7,11 (s, 1H), 7,14 (s, 1H).

Preparare 19**Diclorhidrat de (2-ciclopropil-6-metil-4-piridil)metanamină 3344731, AG2-E14219-090**

- 5 Schema 4, etapa B: se prepară din 2-ciclopropil-6-metil-piridin-4-carbonitril (2,52g, 15,9mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 15 pentru a obține compusul din titlu (3,57 g, randament 95%). LC-ES/MS (m/z): 163,0 (M+H).

Preparare 20

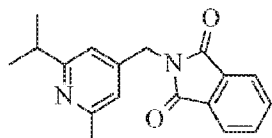
- 10 **2-izopropil-6-metil-piridin-4-carboxilat de metil**



- 15 Se adaugă în picătură o soluție 2M de izopropil clorură de magneziu în THF (7,53 mL, 15,1 mmol), peste 8 minute, la un amestec de 2-cloro-6-metil-piridin-4-carboxilat de metil (1,92g, 10,0 mmol), MnCl₂ (0,065g, 0,502 mmol) și THF (25 mL) agitând sub azot într-o baie de apă/gheață. După agitare în baia rece timp de 4 ore, reacția este stinsă cu NH₄Cl apoasă saturată și extrasă cu EtOAc (2 x 50 mL). Extractul combinat este spălat cu soluție apoasă de NaCl saturată, uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da un ulei chihlimburiu.
- 20 Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu hexani/acetat de etil (gradient de la 50:1 până la 2:1). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (0,683 g, randament 35%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,34 (d, J = 6,9 Hz, 6H) 2,63 (s, 3H), 3,12-3,19 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 7,54 (s, 1H), 7,56 (s, 1H).

Preparare 21

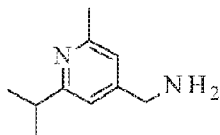
- 25 **2-[(2-izopropil-6-metil-4-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă**



- 30 Se adaugă borohidru de sodiu (0,231g, 6,01 mmol) la o soluție de 2-izopropil-6-metil-piridin-4-carboxilat de metil (0,683g, 3,53 mmol) în EtOH (15 mL) la RT. După agitare peste noapte, solventul este îndepărtat sub presiune redusă, uleiul rămas se diluează cu soluție apoasă de NaCl saturată și se extrage cu EtOAc (2 x 50 mL). Extractul combinat este uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da 652mg de (2-izopropil-6-metil-4-piridil)metanol brut ca un solid chihlimburiu. Alcoolul brut este dizolvat în DCM (20 mL) și tratat
- 35 cu clorură de tionil (0,514 mL, 7,02 mmol). După agitare la RT timp de 4 ore, amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă; dizolvat în toluen și reconcentrat (2x). Clorura de alchil brută este dizolvată în DMF (10 mL) și se adaugă ftalimidă de potasiu (1,32g, 7,02 mmol). Suspensia este agitată la RT timp de 3,5 ore și diluată cu apă (100 mL). Suspensia rezultată este agitată la RT timp de o oră și solidul colectat prin filtrare. Produsul brut este purificat prin
- 40 cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu DCM/acetat de etil (gradient de la 50:1 până la 4:1). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (0,332 g, randament 32%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,29 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 2,51 (s, 3H), 3,06-3,08 (m, 1H), 4,80 (s, 2H), 6,96 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 7,76-7,79 (m, 2H), 7,89-7,92 (m, 2H).

Preparare 22

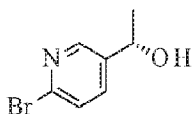
- 45 **(2-izopropil-6-metil-4-piridil)metanamină AG2-E14044-027**



Se adaugă monohidrat de hidrazină (0,70 mL, 1,41 mmol) la o suspensie de 2-[(2-izopropil-6-metil-4-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă (0,332 g, 1,13 mmol) și EtOH (10 mL) la RT. După reflux timp de 1,5 ore, amestecul de reacție este răcit la RT și solidele sunt îndepărtate prin filtrare cu hârtie. Turta de filtru este spălată cu EtOH (10 mL) și filtratele combinate/spălate sunt concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (0,179 g, randament 96%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,31 (d, J= 6,8 Hz, 6H), 1,56-1,63 (br-s, 2H), 2,54 (s, 3H), 3,02-3,09 (m, 1H), 3,86 (s, 2H), 6,95 (s, 2H).

Preparare 23

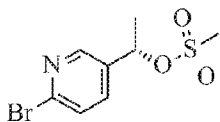
(1S)-1-(6-bromopiridin-3-il)etanol



Schema 6, etapa A: o soluție de cloro{(R)-(+)-2,2'-bis[di(3,5-xilil)fosfino]-1,1'-binaftil}[(2R)-(-)-1-(4-metoxifenil)-1-(4-metoxifenil-*k*C)-3-metil-1,2-butanediamină] ruteniu(II) (103 mg, 0,087 mmol) și KO^tBu (1,0 M în *t*-BuOH, 0,88 mL, 0,88 mmol) în anhidru 2-propanol (15 mL) sub azot se adaugă la o soluție de 1-(6-bromopiridin-3-il)etanonă (23,5 g, 117,0 mmol) în EtOH anhidru (100 mL)/2-propanol anhidru (85 mL) într-o autoclavă Parr de 600 mL sub azot. Autoclava este etanșată, evacuată, presurizată până la 207 kPa cu hidrogen, și agitată la RT timp de aproximativ 6 ore. Amestecul de reacție este concentrat sub presiune redusă pentru a da un reziduu solid și uscat sub vid peste noapte. Reziduu este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu DCM/MTBE (gradient de la 9:1 până la 3:1) pentru a da compusul din titlu (23,7 g, randament 94%). LC-ES/MS (m/z pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br): 202,0/204,0 (M+H). HPLC chirală indică 99,3% ee; t_R = 6,32 min [254 nm; coloană LC: CHIRALCEL® OD-H 4,6 x 150 mm; 5,0 μL injecție; 10% 2-propanol în heptan (conținând 0,2% DMEA); temp. coloană: 25°C; debit: 1,0 mL/min].

Preparare 24

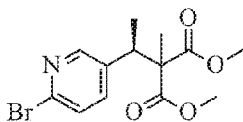
Metansulfonat de (1S)-1-(6-bromopiridin-3-il)etil



Schema 6, etapa B: la o soluție agitată de (1S)-1-(6-bromopiridin-3-il)etanol (3,00 g, 14,8 mmol) și TEA (2,69 mL, 19,3 mmol) în DCM (30 mL) la 0°C se adaugă clorură de metansulfonil (1,38 mL, 17,8 mmol). După 2 ore la 0°C, se adaugă apă și DCM și straturile sunt separate. Stratul apos este extras cu DCM. Straturile organice sunt combinate și spălate secvențial cu NaHCO₃ apoasă saturată și NaCl saturată, uscate pe Na₂SO₄; filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (4,13 g, randament 99%). LC-ES/MS (m/z pentru ⁷⁹Br/⁸¹Br): 280,0/282,0 (M+H). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,74 (d, J=6,6 Hz, 3H), 2,93 (s, 3H), 5,76 (q, J=6,6 Hz, 1H), 7,54 (d, J=8,3 Hz, 1H), 7,62 (dd, J=2,5, 8,3 Hz, 1H), 8,41 (d, J=2,5 Hz, 1H).

Preparare 25

2-[(1R)-1-(6-bromo-3-piridil)etil]-2-metil-propandioate de dimetil



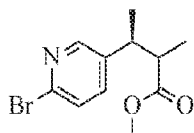
Schema 6, etapa C: se prepară din (1S)-1-(6-bromopiridin-3-il)etil metansulfonat (17,9 g, 63,9 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 1 până se obține compusul din titlu (18,9 g, randament 89%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,39 (d, J= 7,2 Hz, 3H), 1,40 (s, 3H), 3,66 (s, 3H),

3,68-3,71 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 7,42 (d, J= 8,3 Hz, 1H), 7,48 (dd, J= 2,5, 8,3 Hz, 1H), 8,25 (d, J= 2,4 Hz, 1H).

Preparare 26

(3S)-3-(6-bromo-3-piridil)-2-metil-butanoat de metil

5



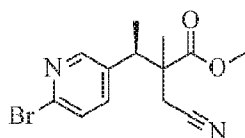
Schema 6, etapa D: se prepară din dimetil 2-[(1R)-1-(6-bromo-3-piridil)etil]-2-metil-propandioat (18,9 g, 57,2 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 2 pentru a obține compusul din titlu (12,5 g, randament 80%) ca un amestec de diastereomeri. LC-ES/MS (m/z): 271,9 (M+H).

10

Preparare 27

(3R)-3-(6-bromo-3-piridil)-2-(cianometil)-2-metil-butanoat de metil

15



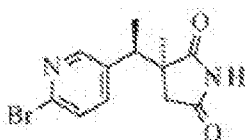
20

Schema 6, etapa E: se prepară din (3S)-3-(6-bromo-3-piridil)-2-metilbutanoat de metil (12,5 g, 46,1 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 3 pentru a obține compusul din titlu (7,66 g, randament 53%) ca un amestec de diastereomeri. ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,36-1,41 (m, 6H) 2,36-2,45 (m, 1H), 2,65-2,73 (m, 1H), 3,17-3,24 (m, 1H), 3,74-3,76 (s, 3H), 7,35-7,39 (m, 1H), 7,47 (d, J= 8,2 Hz, 1H), 8,20 (d, J= 2,2 Hz, 1H).

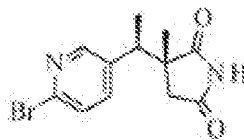
Preparare 28

(3S)-3-[(1R)-1-(6-bromo-3-piridil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă (diastereomer major) și
(3R)-3-[(1R)-1-(6-bromo-3-piridil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă (diastereomer minor)

25



Diastereomer major



Diastereomer minor

Schema 6, etapa F: se prepară din (3R)-3-(6-bromo-3-piridil)-2-(cianometil)-2-metil-butanoat de metil (7,66 g, 24,6 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 4 pentru a da 6,57g de amestec diastereomeric. Diastereomerii sunt separați pe o coloană Chiralpak AD (8x35 cm, 100% EtOH) pentru a da diastereomerul minor ca primul material eluat, (3R)-3-[(1R)-1-(6-bromo-3-piridil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă, (0,74 g, 10%) și diastereomerul major ca al doilea material eluat, (3S)-3-[(1R)-1-(6-bromo-3-piridil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă, (5,21 g, 71%).

30

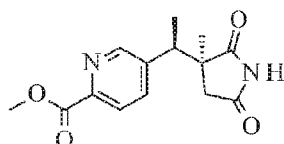
Izomerul major: ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,27 (s, 3H), 1,36 (d, J= 7,1 Hz, 3H), 2,28 (d, J= 18,2 Hz, 1H), 2,93 (d, J= 18,3 Hz, 1H), 3,22 (q, J= 7,2 Hz, 1H), 7,41 (dd, J= 2,6, 8,2 Hz, 1H), 7,49 (d, J= 8,3 Hz, 1H), 7,87-7,89 (br-s, 1H), 8,26 (d, J= 2,4 Hz, 1H).
Izomerul minor: ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,39 (d, J= 7,3 Hz, 3H), 1,44 (s, 3H), 2,46 (d, J= 18,4 Hz, 1H), 2,76 (d, J= 18,5 Hz, 1H), 3,25 (q, J= 7,3 Hz, 1H), 7,43-7,50 (m, 2H), 7,98-8,00 (br-s, 1H), 8,25 (d, J= 2,4 Hz, 1H).

40

Preparare 29

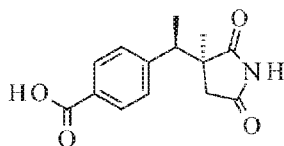
5-[(1R)-1-(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]piridin-2-carboxilat de metil

45



Schema 6, etapa G: Schema 3, etapa B: acetatul de paladiu(II) (115 mg, 0,49 mmol), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen (340 mg, 0,6 mmol), (3*R*)-3-[(1*R*)-1-(6-bromopiridin-3-il)etil]-3-metil-1-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-1,3-dihidro-2H-pirol[2,3-*b*]piridin-2-onă (1,5 g, 5,07 mmol), MeOH anhidru (25 mL), ACN anhidru (40 mL), și TEA (1,8 mL, 13 mmol) sunt combinate într-o autoclavă Parr de 300 mL cu un agitator mecanic. Autoclava este etanșată, purjată cu CO, presurizată până la 100 psi cu CO, și încălzită la 85°C cu agitare. După 1 oră, amestecul de reacție este răcit la temperatura camerei peste noapte și filtrat. Filtratul este concentrat sub presiune redusă pentru a da un reziduu solid. Reziduu este suspendat în EtOAc (200 mL) și filtrat din nou. Filtratul este concentrat sub presiune redusă pentru a da un reziduu portocaliu. Reziduu portocaliu este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu un gradient de 5-60% EtOAc în DCM peste 35 min, pentru a da compusul din titlu (1,34 g, randament 95%), după evaporarea solventului din fracțiunile dorite. ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,27 (s, 3H), 1,41 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 2,29 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,98 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 3,34 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 4,04 (s, 3H), 7,71 (dd, J = 2,2, 8,1 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,18-8,29 (br-s, 1H), 8,64 (d, J = 1,9 Hz, 1H).

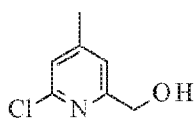
15 **Preparare 30**



Schema 6, etapa H: se adaugă hidrat de LiOH solid (3,16 g, 75,3 mmol) la o soluție de 4-[(1*R*)-1-[(3*S*)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzoat de metil (6,9 g, 25,1 mmol) dizolvată într-un amestec de THF (28 mL) și apă (12 mL). Amestecul rezultat este agitat la RT peste noapte, pH-ul este ajustat la 3 cu 1N HCl apos, și solvenții sunt îndepărtați sub presiune redusă. Reziduu rezultat este uscat într-un cuptor cu vid la 45°C peste noapte pentru a obține compusul din titlu (5,96 g, randament 91%) adecvat pentru utilizare în continuare fără purificare suplimentară. LC-ES/MS (m/z): 260,0 (M-H).

25 **Preparare 31**

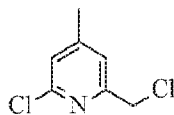
(6-cloro-4-metil-2-piridil)metanol



Schema 5, etapa A (Y=CH, Z=N): se adaugă borohidru de sodiu (905 mg, 23,4 mmol) într-o porție la o soluție de 6-cloro-4-metilpiridin-2-carboxilat de etil (2,81 g, 13,8 mmol) dizolvată în EtOH (25 mL). Amestecul de reacție este agitat timp de 18 ore la RT și concentrat sub presiune redusă. Reziduu rezultat este diluat cu soluție apoasă de NaCl saturată și extras de două ori cu EtOAc, extractele organice sunt uscate pe Na₂SO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a obține compusul din titlu adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. LC-ES/MS (m/z ³⁵Cl/³⁷Cl): 158,0/160,0 (M+H).

35 **Preparare 32**

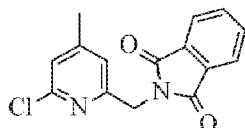
2-cloro-6-(clorometil)-4-metil-piridină



Schema 5, etapa B (Y=CH, Z=N): la o soluție de (6-cloro-4-metil-2-piridil)metanol (2,3 g, 13,8 mmol) în DCM (25 mL) sub o atmosferă de azot se adaugă clorură de tionil (2 mL, 27,5 mmol). Amestecul de reacție este agitat la RT timp de 4,5 ore, concentrat sub presiune redusă, și reziduu reconstituit în toluen și reconcentrat de două ori mai mult sub presiune redusă, apoi uscat într-un cuptor cu vid la 45°C peste noapte, pentru a obține compusul din titlu (2,36 g, randament 97%) ca ulei chihlimbariu deschis. ¹H RMN (CDCl₃): δ 2,37 (s, 3H), 4,59 (s, 2H), 7,11 (s, 1H), 7,24 (s, 1H).

50 **Preparare 33**

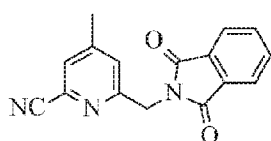
2-[(6-cloro-4-metil-2-piridil)metil]izindolin-1,3-dionă



Schema 5, etapa C (Y=CH, Z=N): se adaugă ftalimidă de potasiu (2,98 g, 15,8 mmol) la o soluție de 2-cloro-6-(clorometil)-4-metil-piridină (2,36 g, 13,1 mmol) în DMF (25 mL) sub un curent de azot la RT. S-a continuat agitarea timp de 3,5 ore, și s-a adăugat suplimentar ftalimidă de potasiu (523 mg, 2,8 mmol) și agitarea la RT s-a continuat peste 72 ore. Amestecul de reacție este diluat cu apă (150 mL) și amestecul este agitat timp de 30 min. Precipitatul alb rezultat este colectat prin filtrare in vid, și solidele sunt uscate într-un cuptor cu vid la 35°C peste noapte pentru a obține compusul din titlu ca solid alb (3,6 g, randament 96%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 2,29 (s, 3H), 4,94 (s, 2H), 6,92 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,73-7,79 (m, 2H), 7,88-7,93 (m, 2H).

Preparare 34

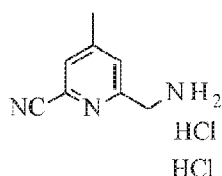
6-[(1,3-dioxoisoindolin-2-il)metil]-4-metil-piridin-2-carbonitril



Schema 5, etapa D (Y=CH, Z=N): azotul este barbotat printr-o suspensie de 2-[(6-cloro-4-metil-2-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă (1,3 g, 4,6 mmol), cianură de zinc (0,23 mL, 3,5 mmol), diclorură de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen]paladiu(II) (174 mg, 0,23 mmol) și zinc elemental (76 mg, 1,2 mmol) în DMF timp de 10 min. Amestecul de reacție este încălzit într-o baie cu ulei la 120°C timp de 5,5 ore. Amestecul este răcit la RT, diluat cu EtOAc (100 mL), și filtrat prin hârtie pentru a îndepărta orice insolubile. Filtratul este spălat secvențial cu 15% NH₄OH apoasă, apă, și soluție apoasă de NaCl saturată; stratul organic este uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă. Reziduul rezultat este purificat prin cromatografie rapidă pe gel de siliciu, eluand cu 10-60% EtOAc în hexani peste 35 min pentru a obține compusul din titlu (1,04 g, randament 80,5%) ca solid galben deschis după evaporarea solventului. ¹H RMN (CDCl₃): δ 2,39 (s, 3H), 5,00 (s, 2H), 7,28 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,74-7,80 (m, 2H), 7,88-7,94 (m, 2H).

Preparare 35

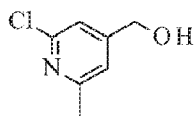
Diclorhidrat de 6-(aminometil)-4-metil-piridin-2-carbonitril



Schema 5, etapa E (Y=CH, Z=N): se adaugă hidrat de hidrazină (371 μL, 7,5 mmol) la o suspensie de 6-[(1,3-dioxoisoindolin-2-il)metil]-4-metil-piridin-2-carbonitril (1,04 g, 3,7 mmol) în EtOH (20 mL) și amestecul rezultat este încălzit la reflux timp de 1,5 ore. Amestecul de reacție este răcit, filtrat, și filtratul este concentrat sub presiune redusă. Reziduul rezultat este dizolvat în MeOH (□ 25 mL) și încărcat pe o coloană SCX (10 g), eluând cu 1:1 MeOH:DCM (30 mL), MeOH (20 mL), și 2M NH₃/MeOH (50 mL). Frațiunile de amoniac metanolic sunt concentrate sub presiune redusă pentru a da un ulei galben deschis care este dizolvat în THF (15 mL) și tratat cu 4N HCl în 1,4-dioxan (2,5 mL). Amestecul este agitat la RT timp de 15 min, și solidele rezultate sunt colectate prin filtrare in vid. Turta de filtru cristalină este uscată într-un cuptor cu vid la 45°C peste noapte pentru a obține compusul din titlu (541 mg, randament 66%) ca solid galben pal. ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 2,41 (s, 3H), 4,22 (q, J=5,6 Hz, 2H), 7,70 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 8,55 (br s, 2H).

Preparare 36

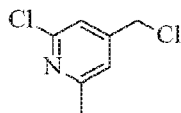
(2-cloro-6-metilpiridin-4-il)metanol



- Schema 5, etapa A (Y=N, CH): se prepară din 2-cloro-6-metilpiridin-4-carboxilat de metil (2,4g, 12,5 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 31 până se obține compusul din titlu (2,0 g, randament 97%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 2,54 (s, 3H), 4,71 (s, 2H), 7,07 (s, 1H), 7,16 (s, 1H).

Preparare 37**2-cloro-4-(clorometil)-6-metilpiridină**

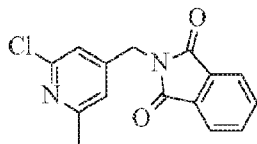
10



- Schema 5, etapa B (Y=N, CH): se prepară din (2-cloro-6-metilpiridin-4-il)metanol (1,97 g, 12,1 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 32 pentru a obține compusul din titlu (2,28 g, randament 99,5%). ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 2,45 (s, 3H), 4,74 (s, 2H), 7,33 (s, 1H), 7,37 (s, 1H).

Preparare 38**2-[(2-cloro-6-metil-4-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă**

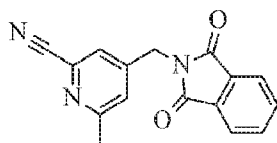
20



- Schema 5, etapa C (Y=N, CH): se prepară din 2-cloro-4-(clorometil)-6-metilpiridină (2,28 g, 12 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 33 pentru a obține compusul din titlu (3,67 g, randament 98,7%). ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 2,41 (s, 3H), 4,77 (s, 2H), 7,21 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,85-7,94 (m, 4H).

Preparare 39**4-[(1,3-dioxoizoindolin-2-il)metil]-6-metil-piridin-2-carbonitril**

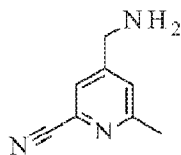
25



- Schema 5, etapa D (Y=N, CH): se prepară din 2-[(2-cloro-6-metil-4-piridil)metil]izoindolin-1,3-dionă (3,66 g, 11,9 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 34 pentru a obține compusul din titlu (1,7 g, randament 51,5%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 2,58 (s, 3H), 4,84 (s, 2H), 7,36 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,75-7,81 (m, 2H), 7,88-7,93 (m, 2H).

Preparare 40**4-(aminometil)-6-metilpiridin-2-carbonitril**

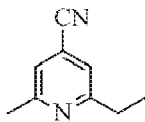
35



- Schema 5, etapa E (Y=N, CH): se prepară din 4-[(1,3-dioxoizoindolin-2-il)metil]-6-metil-piridin-2-carbonitril (1,69 g, 6,1mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 35 pentru a obține compusul din titlu (379 mg, randament 41%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,47 (br-s, 2H), 2,59 (s, 3H), 3,94 (s, 2H), 7,36 (s, 1H), 7,53 (s, 1H).

Preparare 41**2-etil-6-metilpiridin-4-carbonitril**

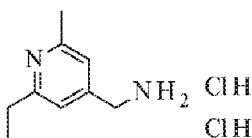
40



Schema 4, etapa A: se adaugă bromură de etilmagneziu (18 ml, 17,7 mmol) în porții la un amestec de 2-cloro-6-metilzonicotinonitril (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 20(2), 576-580; 2010) (10,0 g, 63,7 mmol), 1-metil-2-pirolidinonă (10 ml), THF (10 mL) și acetoacetat de fier(III) (521 mg, 1,47 mmol) agitând sub azot la RT. Amestecul de reacție este concentrat pentru a îndepărta majoritatea THF și stins cu apă. Stratul apos este extras cu acetat de etil. Organicile combinate sunt spălate secvențial cu apă și soluție apoasă de NaCl saturată, uscate pe Na₂SO₄, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu 15% hexani/acetat de etil. Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (0,53 g, randament 37%). LC-ES/MS (m/z): 147,2 (M+H).

Preparare 42

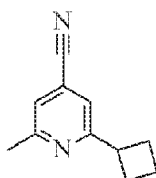
Diclorhidrat de 1-(2-etil-6-metilpiridin-4-il)metanamină



Schema 4, etapa B: o soluție de 2-etil-6-metilpiridin-4-carbonitril (0,37 g, 2,5 mmol) în 2M NH₃ (2 mol/l) în MeOH (12,5 mL) se adaugă la o suspensie de nichel Raney (0,5 g) în 2M NH₃ în MeOH (12,5 mL). Vasul de reacție este purjat cu azot, și H₂ (60 psi) este introdus, cu agitarea ulterioară a amestecului de reacție la 40°C timp de 15 minute. Amestecul de reacție este represiurizat cu H₂ (60 psi) și se continuă agitarea timp de 4 ore. Amestecul de reacție este filtrat. Materialul brut este diluat cu 3N HCl în exces în MeOH și concentrat pentru a da un ulei verde. Uleiul brut este triturat și concentrat secvențial în următorii solvenți: toluen, acetonitril, metanol/toluen și acetonitril/toluen, pentru a da compusul din titlu ca solid verde (0,56 g, randament 94%) după îndepărtarea solventului. LC-ES/MS (m/z): 151,0 (M+H).

Preparare 43

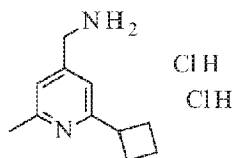
2-ciclobutil-6-metil-piridin-4-carbonitril



Schema 4, etapa A: se adaugă bromură de ciclobutilzinc (0,5M în THF, 3,28 mmol) în picături la o soluție degazată de 2-cloro-6-metil-piridin-4-carbonitril (250 mg, 1,64 mmol) și [1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen]dicloropaladiu(II) (122 mg, 0,164 mmol) în 1,4-dioxan. Se încălzește până la 80°C timp de 1 oră apoi se răcește la RT. Se adaugă apă (5mL) și se agită rapid timp de 5 minute. Se îndepărtează solidele prin filtrare prin pământ de diatomee. Se spală cu EtOAc și se separă straturile. Se spală stratul organic cu apă și soluție apoasă de NaCl saturată. Se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează sub presiune redusă. Se purifică reziduul rezultat prin cromatografie rapidă pe gel de siliciu, eluând cu un gradient de 10-30% EtOAc în heptan, pentru a da compusul din titlu (232 mg, 82%), după evaporarea solventului. LC-ES/MS (m/z): 173,0 (M+H).

Preparare 44

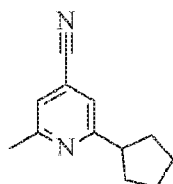
Diclorhidrat de (2-ciclobutil-6-metil-4-piridil)metanamină



Schema 4, etapa B: se prepară din compusul din titlu în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 42, utilizând 2-ciclobutil-6-metil-piridin-4-carbonitril. LC-ES/MS (m/z): 177,0 (M+H).

Preparare 45

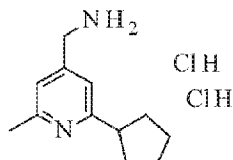
2-ciclopentil-6-metil-piridin-4-carbonitril



Schema 4, etapa A: se prepară din compusul din titlu în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 43, utilizând bromură de ciclopentilzinc. ¹H RMN (CDCl₃): δ 1,62-1,78 (m, 4H), 1,78-1,89 (m, 2H), 2,00-2,14 (m, 2H), 2,57 (s, 3H), 3,09-3,25 (m, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,19 (s, 1H).

Preparare 46

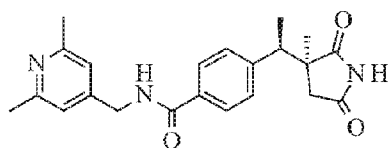
Diclorhidrat de (2-ciclopentil-6-metil-4-piridil)metanamină



Schema 4, etapa B: se prepară din compusul din titlu în mod esențial prin metoda descrisă în Preparare 42, utilizând 2-ciclopentil-6-metil-piridin-4-carbonitril. LC-ES/MS (m/z): 191,0 (M+H).

Exemplul 1: prima procedură

N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă



Schema 1, etapa F: la o soluție de acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic (1,20 g, 4,59 mmol), diclorhidrat de 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină (1,15 g, 5,51 mmol), EDCI (1,08 g, 5,51 mmol), HOBt (768 mg, 5,51 mmol), și DMF (25 mL) se adaugă TEA (2,59 mL, 18,4 mmol). După agitare la RT timp de 16 ore, se adaugă apă, și se extrage amestecul cu DCM (2 x 75 mL). Stratul organic este uscat pe Na₂SO₄, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da un ulei care este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu DCM/MeOH (gradient de la 1:0 până la 9:1) pentru a obține compusul din titlu (1,56 g, randament 89%), după evaporarea solventului. LC-ES/MS (m/z): 380,2 (M+H). [α]_D²⁰ = -38,08 ° (c = 1,0, MeOH).

Exemplul 1: a doua procedură

La o suspensie de acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic (9,3 g, 36,0 mmol) și diclorhidrat de 1-(2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină (7,8 g, 37,0 mmol) în DMF anhidră (100 mL) se adaugă DIPEA (2,25 mL, 210 mmol) urmată de BOP (17,5 g, 39 mmol) în porții mici peste 10 min. Amestecul rezultat este agitat la RT timp de 80 min, turnat în 1500 mL gheață/apă și agitat viguros. PH-ul este ajustat la -7-8 cu 5,0 N HCl și amestecul lăsat să se agite la RT peste noapte, extras cu MTBE, și faza organică este spălată cu apă, uscată pe Na₂SO₄, filtrată,

și concentrată *in vid* și purificată prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu 10% metanol/acetat de etil în hexani (gradient de la 3:5 până la 1:0) și fracțiunile conținând produsul sunt combinate și evaporate *in vid*. Reziduul rezultat este suspendat în apă (150 mL) timp de 1,5 zile, și solidul alb ulterior este colectat prin filtrare și uscat *in vid* pentru a obține compusul din titlu (9,8 g, randament 73%) ca pulbere albă fină. LC-ES/MS (m/z): 380,2 (M+H).

Exemplul 1: a treia procedură

Schema 2, etapa I: un amestec de (3S)-3-[(1R)-1-(4-bromofenil)etil]-3-metil-pirolidin-2,5-dionă (120 g, 401,1 mmol), diclorhidrat de (2,6-dimetil-4-piridil)metanamină (100 g, 481,3 mmol), acetat de paladiu(II) (2,97g, 13,24 mmol), 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanten (14,85 g, 25,67 mmol), DIPEA (181 g, 1404 mmol) și toluen (1,2 L) este combinat într-un vas de reacție din oțel, purjat cu N₂, etanșat sub o atmosferă de monoxid de carbon la 60 psi (401,1 mmol), și încălzit la 100°C timp de 18 ore. Amestecul de reacție este răcit la RT și purjat cu N₂ de patru ori. Se adaugă puțin MeOH și DCM și amestecul este filtrat printr-un strat de pământ de diatomee. Filtratul este concentrat sub presiune redusă pentru a da un ulei maro închis. Se adaugă DCM (1,5 L) și H₂O (1,5 L), și solidul maro rezultat este colectat prin filtrare și triturat cu Et₂O pentru a da compusul din titlu ca un solid alburiu (124,8 g, randament 92%). LC-ES/MS (m/z): 380,2 (M+H).

Difracție cu raze X pe pulbere (XRPD)

Tiparele XRD de solid cristalin sunt obținute pe un difractometru cu raze X pe pulbere Bruker D4 Endeavor, echipat cu o sursă CuKα ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) și un detector Vantec, care operează la 35 kV și 50 mA. Mostră este scanată între 4 și 40° în 2θ, cu o etapă de dimensionare de 0,0087° în 2θ și o rată de scanare de 0,5 secunde/etapă, și cu o divergență de 0,6 mm, antiîmprăștiere fixată la 5,28 mm, și detector de fante de 9,5 mm. Pulberea uscată este ambalată pe un suport de cuarț pentru mostră și o suprafață netedă este obținută utilizând o lamelă din sticlă. Este bine cunoscut în domeniul cristalografiei că, pentru orice date ale forme cristaline, intensitățile relative ale maximelor de difracție pot varia din cauza orientării preferate care rezultă din factori cum ar fi morfologia și obișnuința cristalului. Unde sunt prezente efectele de orientare preferată, intensitățile maxime sunt alterate, dar pozițiile maxime caracteristice ale polimorfei sunt nemodificate. Vezi, *de exemplu*, The United States Pharmacopeia #38, National Formulary #35 capitolul <941> Characterization of crystalline and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction (XRPD), Official May 1, 2015. Mai mult, este de asemenea bine cunoscut în domeniul cristalografiei că pentru orice date ale forme cristaline pozițiile maximelor unghiulare pot varia puțin. De exemplu, pozițiile maximelor se pot deplasa din cauza unei variații în temperatura sau umiditatea la care este analizată o mostră, deplasarea mostrei, sau prezența sau absența unui standard intern. În cazul prezent, o variabilitate a poziției maximului de $\pm 0,2$ în 2θ va ține seama de aceste potențial variații fără a împiedica identificarea neechivocă a forme cristaline indicate. Confirmarea unei forme cristaline poate fi făcută pe baza oricărei combinații unice de maxime distingibile (în unități de 2θ), de obicei maximele mai prominente. Tiparele de difracție ale forme cristaline, colectate la temperatura ambiantă și umiditate relativă, au fost ajustate pe baza maximelor standard NIST 675 la 8,85 și 26,77 grade 2θ.

Formă cristalină din Exemplul 1

N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă (anhidrat cristalin)

Compusul din exemplul 1, N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă, poate fi cristalizat ca un anhidrat de bază liberă prin dizolvarea N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidei (150 mg, 0,40 mmol) în 3 mL de 1:1 metanol: apă la 70°C pentru a da o soluție aproape clară. Amestecul este răcit la RT și agitat, până când poate fi observată o suspensie groasă albă de solide după 2 ore. Solidele sunt filtrate și uscate sub vid la 70°C timp de 2 ore pentru a obține compusul dorit din titlu, anhidrat cristalin (126 mg, randament 84%).

Astfel, o mostră preparată de N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă (anhidrat cristalin) este caracterizată printr-un tipar XRPD utilizând radiație CuKα ca având maxime de difracție (valori 2θ) cum s-au descris în Tabelul 1 de mai jos. Specific, tiparul conține un maxim la 13,4° în combinație cu unul sau mai multe din maximele selectate din grupul constând din 14,4°, 18,1°, 19,4°, 20,9°, 21,2°, 21,5° și 26,5° cu o toleranță pentru unghiurile de difracție de 0,2 grade.

Tabelul 1: maxime de difracție cu raze X pe pulbere ale forme anhidrate cristaline din Exemplul 1

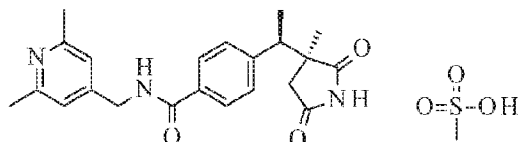
Maxim	Unghi (2-Teta°)	Intensitate (%)
1	13,4	100
2	14,4	74

Maxim	Unghi (2-Teta°)	Intensitate (%)
3	16,3	11
4	18,1	45
5	19,4	49
6	20,6	11
7	20,9	30
8	21,2	37
9	21,5	51
10	21,7	20
11	23,1	14
12	24,1	17
13	24,6	22
14	25,4	14
15	26,5	25
16	28,0	13
17	30,8	11

Exemplul 1A: prima procedură

Metansulfonat de N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-((1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil)benzamidă cristalină

5



Metansulfonatul de N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-((1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil)benzamidă (509 mg, 1,34 mmol) este suspendat în 5 mL de acetonă la 1000 rpm/60°C. Se adaugă acid metansulfonic (105 µL, 1,6 mmol), și amestecul este agitat pentru a da o soluție galbenă clară cu unele gume pe fundul fiolei. Mostra este suspendată timp de aproximativ 10 min, și unele din gume se dizolvă înainte ca amestecul să devină tulbure și un solid alb să se precipite din soluție. Căldura este îndepărtată după alte 20 min de agitare, și mostra este agitată la 1000 rpm în timp ce se răcește la RT. Solidul alb rezultat este izolat prin filtrare în vid, clătit cu 500 µL de acetonă, și uscat pe hârtie de filtru timp de 15 min sub un curent de aer pentru a obține compusul din titlu (605 mg, randament 94,8%) ca solid cristalin alb.

Exemplul 1A: a doua procedură

O soluție de N-[(2,6-dimetil-4-piridil)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzamidă (23,6 g, 62,2 mmol) în acetonă (500 mL) este încălzită la reflux în timp ce se agită la 1000 rpm timp de 1 oră. Se adaugă acid metansulfonic (4,5 mL, 69 mmol) și amestecul este încălzit timp de 1 oră. După răcirea la RT, precipitatul rezultat este colectat prin filtrare, spălat cu acetonă, și uscat sub vid pentru a obține compusul din titlu ca o pulbere albă (28,3 g, randament 96%). LC-ES/MS (m/z): 380,2 (M+H). ¹H RMN (DMSO): 1,07 (s, 3H), 1,22 (d, 3H), 2,15 (d, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,66 (s, 6H), 3,05 (d, 1H), 3,12 (q, 1H), 4,62 (d, 2H), 7,43 (d, 2H), 7,62 (s, 2H), 7,87 (d, 2H), 9,24 (bt, 1H), 11,24 (bs, 1H). Analiză chirală: >99% de, t_R = 2,32 min (coloană chirală SFC OD-H, 17% EtOH în 20 mM NH₃/MeOH, 5 mL/min, 100 bar, 35°C, 220 nm).

O mostră de metansulfonat de N-[(2,6-dimetilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă cristalină este caracterizată printr-un tipar XRD utilizând radiație CuKα ca având maxime de difracție (valori 2θ) cum s-au descris în Tabelul 2 de mai jos, și în particular având maxime la 18,8° în combinație cu unul sau mai multe din maxime selectate din grupul constând din 23,2°, 24,7°, și 15,2°; cu o toleranță pentru unghiulurile de difracție de 0,2 grade.

Tabelul 2: maxime de difracție cu raze X pe pulbere din Exemplul 1A

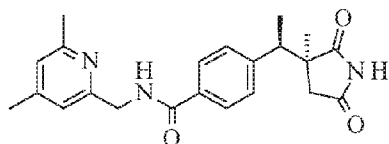
Maxim	Unghi (2-Teta°)	Intensitate (%)
1	10,3	6,4%
2	10,9	6,7%
3	11,7	11,1%
4	12,6	9,6%
5	15,2	20,6%

Maxim	Unghi (2-Teta°)	Intensitate (%)
6	16,2	17,1%
7	18,8	100,0%
8	21,0	14,3%
9	23,2	43,3%
10	24,7	27,7%

Exemplul 2

N-[(4,6-dimetil-2-piridil)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzamidă

5



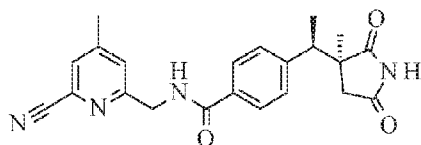
Schema 7, etapa A (X=CH, Y=N, Z=CH, R=Me): se prepară din 1-(4,6-dimetilpiridin-2-il)metanamină (Aldrich, CAS# 76457-15-3, 30 mg, 0,21 mmol) și acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzoic (45 mg, 0,17 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 1: prima procedură pentru a obține compusul din titlu (61 mg, randament 93%). LC-ES/MS (m/z): 380,0 (M+H).

10

Exemplul 3

N-[(6-ciano-4-metil-2-piridil)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzamidă

15



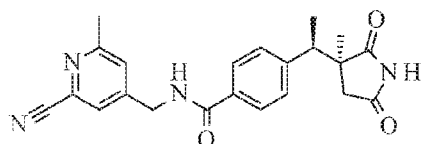
Schema 7, etapa A (X=CH, Y=N, Z=CH, R=CN): se prepară din 6-(aminometil)-4-metilpiridin-2-carbonitril (35 mg, 0,23 mmol) și acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzoic (50 mg, 0,191 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 1: prima procedură pentru a obține compusul din titlu (36 mg, randament 48%). LC-ES/MS (m/z): 391,0 (M+H).

20

Exemplul 4

N-[(2-ciano-6-metil-4-piridil)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzamidă

25



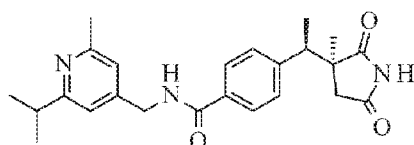
Schema 7, etapa A (X=CH, Y=CH, Z=N, R=CN): se prepară din 4-(aminometil)-6-metilpiridin-2-carbonitril (53 g, 0,289 mmol) și acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzoic (50 mg, 0,19 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 1: prima procedură pentru a obține compusul din titlu (52 g, randament 69%). LC-ES/MS (m/z): 391,0 (M+H).

30

Exemplul 5

N-[(2-izopropil-6-metil-4-piridil)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzamidă

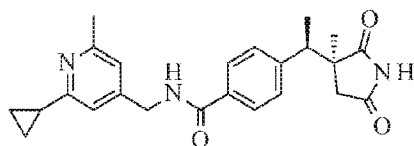
35



Schema 7, etapa A (X=CH, Y=CH, Z=N, R=i-Pr): se prepară din (2-izopropil-6-metil-4-piridil)metanamină (42 mg, 0,23 mmol) și acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzoic (50 mg, 0,19 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 1: prima procedură pentru a obține compusul din titlu (60 mg, randament 77%). LC-ES/MS (m/z): 408,2 (M+H).

Exemplul 6

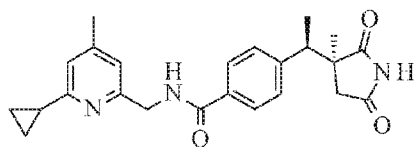
N-[(2-ciclopropil-6-metil-4-piridil)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzamidă



Schema 7, etapa A (X=CH, Y=CH, Z=N, R=c-Pr): se prepară din diclorhidrat de (2-ciclopropil-6-metil-4-piridil)metanamină (54 mg, 0,23 mmol) și acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzoic (50 mg, 0,19 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 1: prima procedură pentru a obține compusul din titlu (0,068 g, randament 88%). LC-ES/MS (m/z): 406,2 (M+H).

Exemplul 7

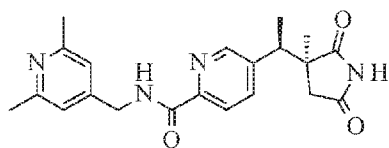
N-[(6-ciclopropil-4-metil-2-piridil)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzamidă



Schema 7, etapa A (X=CH, Y=N, Z=CH, R=c-Pr): se prepară din diclorhidrat de (6-ciclopropil-4-metil-2-piridil)metanamină (54 mg, 0,23 mmol) și acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]benzoic (50 mg, 0,19 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 1: prima procedură pentru a obține compusul din titlu (64 g, randament 83%). LC-ES/MS (m/z): 406,2 (M+H).

Exemplul 8

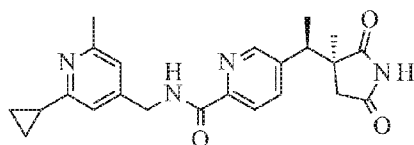
N-[(2,6-dimetil-4-piridil)metil]-5-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]piridin-2-carboxamidă



Schema 7, etapa A (X=N, Y=CH, Z=N, R=Me): 5-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]piridin-2-carboxilat de metil (110 mg, 0,39 mmol), (2,6-dimetilpiridin-4-il)metamină (Aurora Building Blocks, CAS # 324571-98-4, 83 mg, 0,59 mmol), și toluen (10 mL) sunt încălzite la 150°C timp de 2 zile și la 165°C timp de o zi. Amestecul de reacție este răcit și concentrat. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu DCM/MeOH (gradient de la 99:1 până la 92:8). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (64 mg, randament 42%). LC-ES/MS (m/z): 381,0 (M+H).

Exemplul 9

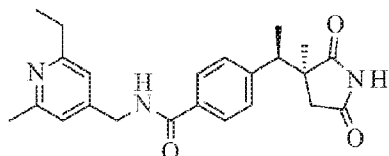
N-[(2-ciclopropil-6-metil-4-piridil)metil]-5-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxo-pirolidin-3-il]etil]piridin-2-carboxamidă



Schema 7, etapa A (X=N, Y=CH, Z=N, R=c-Pr): 5-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]piridin-2-carboxilat de metil (100 mg, 0,36 mmol), diclorhidrat de (2-ciclopropil-6-metil-4-piridil)metanamină (126 mg, 0,54 mmol), trietilamină (0,15 mL, 1,07 mmol) și toluen (3 mL) sunt încălzite într-un cuptor cu microunde la 170°C timp de 1 oră și într-o baie cu ulei la 160°C timp de 20 ore. Amestecul de reacție este răcit și concentrat. Produsul brut este purificat prin cromatografie rapidă pe siliciu, eluând cu DCM/MeOH (gradient de la 99:1 până la 92:8). Frațiunile de cromatografie pure sunt combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (34 mg, randament 23%). LC-ES/MS (m/z): 407,0 (M+H).

Exemplul 10

- 10 **N-[(2-etil-6-metilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă**

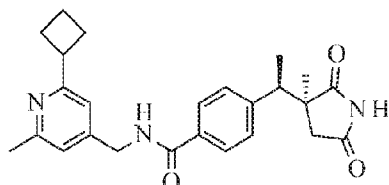


- 15 Schema 7, etapa A (X=CH, Y=CH, Z=N, R=Et): la o soluție de acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic (40 mg, 0,153 mmol) în DMF (0,76 mL) se adaugă diclorhidrat de 1-(2-etil-6-metilpiridin-4-il)metanamină (51 mg, 0,23 mmol), DIPEA (0,15 mL, 0,92 mmol), și HATU (71 mg, 0,18 mmol) la RT. După 17 ore, amestecul de reacție este purificat prin cromatografie cu fază inversă (coloană FENOMENEX® GEMINI®-NX C18) eluând cu 10 mmol bicarbonat de amoniu (pH 10 cu 5% metanol) și ACN pentru a da compusul din titlu (43,0 mg, randament 71%), după evaporarea solventului. LC/MS (m/z): 394,4 (M+H).

Exemplul 11

- 20 **N-[(2-ciclobutil-6-metilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă**

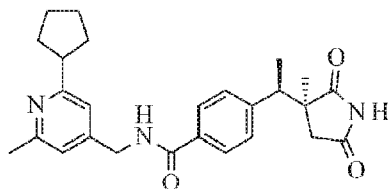
25



- 30 Schema 7, etapa A (X=CH, Y=CH, Z=N, R=c-Bu): se prepară din acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic (40 mg, 0,15 mmol) și diclorhidrat de (2-ciclobutil-6-metil-4-piridil)metanamină (57 mg, 0,23 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 10 pentru a da compusul din titlu (38 mg, randament 60%). LC/MS (m/z): 420,2 (M+H).

Exemplul 12

- 35 **N-[(2-ciclopentil-6-metilpiridin-4-il)metil]-4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzamidă**



- 40 Schema 7, etapa A (X=CH, Y=CH, Z=N, R=c-pentil): se prepară din acid 4-[(1R)-1-[(3S)-3-metil-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil]benzoic (40 mg, 0,15 mmol) și diclorhidrat de (2-ciclopentil-6-metil-4-piridil)metanamină (60 mg, 0,23 mmol) în mod esențial prin metoda descrisă în Exemplul 10 pentru a da compusul din titlu (47,7 mg, randament 72%). LC/MS (m/z): 434,2 (M+H).

Inhibarea producției de AMPc prin antagoniștii receptorului CGRP

- 45 Receptorul hCGRP (peptida înrudită cu gena calcitonină umană) este cuplat funcțional la proteinele Gas. Stimularea de hCGRP conduce la o sinteză crescută de AMPc intracelulare și poate fi blocată prin adăugarea de antagoniști ai receptorului. Activitatea receptorului este astfel o

reflexie a cantității de AMPc prezentă în celulele care pot fi detectate utilizând tehnologie standard *in vitro*.

Cultură celulară: Celulele neuroblastom SK-N-MC cultivate (ATCC® HTB-10™) care exprimă endogen receptorul hCGRP sunt crescute în mediu esențial minim Eagle (HYCLONE™) suplimentat cu 10% ser fetal bovin inactivat termic (FBS; GIBCO®), aminoacizi neesențiali (GIBCO®), 1 mM piruvat de sodiu, 2 mM L-glutamină, 100 U/mL de penicilină, și 10 μg/mL de streptomycină până la aproximativ 70% confluență. După furnizarea mediului proaspăt, celulele sunt incubate la 37°C peste noapte. Pe ziua de test, celulele sunt detașate utilizând ACCUTASE® (MP Biomedicals), resuspendate în tampon de testare [soluție salină echilibrată Hank/soluție salină tamponată cu fosfat Dulbecco cu 100 mg/mL fiecare de CaCl₂ și MgCl₂ amestecate 1:2, 3,3 mM acid 4-(2-hidroxiethyl)-1-piperazinetsulfonic, 0,03% albumină din ser bovin, și 0,5 mM 1-metil-3-izobutilxantină (ca inhibitor de AMPc)], și înșămânțate 3-5K/godeu în plăci albe acoperite cu poli-D-lizină cu 384 de godeuri (BD Biosciences).

Inhibarea producției de AMPc: Pentru studiile de răspuns la doză, compușii sunt diluați serial 1:3 în dimetil sulfoxid și apoi 1:10 în tampon de testare. CGRP uman (0,8 nM; Bachem) ca un agonist specific receptorului pentru receptorul hCGRP este amestecat cu compus diluat și adăugat la celule ca stimulare a provocării la concentrațiile lor EC₈₀.

Analiza datelor: Cantitatea de AMPc intracelulară este cuantificată utilizând tehnologia HTRF (Cisbio) conform cu instrucțiunile fabricantului. Pe scurt, conjugatul AMPc-d2 și conjugatul anti-AMPc-criptat în tampon de lizare sunt incubate cu celulele tratate la RT timp de 90 min. Semnalul HTRF este detectat imediat utilizând un cititor de placă ENVISION® (Perkin-Elmer) pentru a calcula raportul de fluorescență la 665 până la 620 nM. Datele brute sunt convertite la cantitatea de AMPc (pmoli/godeu) utilizând o curbă standard AMPc generată pentru fiecare experiment. Valorile EC₅₀ relative sunt calculate din intervalul superior-inferior de curbă de răspuns la concentrație utilizând un program de ajustare cu curbă logistică cu patru parametri (ACTIVITATEBASE® v5,3,1,22 sau GENEDATA SCREENER® v12,0,4), și valorile K_b sunt estimate ca valori IC₅₀ corectate agonist utilizând ecuația:

$$K_b = (IC_{50}) / [1 + ([Agonist] / EC_{50})]$$

Valorile K_b estimate sunt raportate ca valori medii ± SEM, mediate din numărul de rulări (n).

Urmand procedura în mod esențial cum s-a descris mai sus, compușii din Exemplele 1-12 au o K_b măsurată la CGRP uman așa cum se arată în Tabelul 3. Aceasta demonstrează că compușii din Exemplele 1-12 sunt antagoniști ai receptorului CGRP uman *in vitro*.

Tabelul 3. K_b măsurat la receptorul CGRP uman *in vitro*

Nr. exemplu	K _b hCGRP (nM)	n (număr de rulări)
1	0,546±0,226	7
2	2,22±1,47	8
3	1,51±0,140	4
4	23,5±0,925	2
5	0,718±0,0045	2
6	0,375±0,172	6
7	0,582±0,228	3
8	1,25±0,0045	2
9	1,15±0,181	2
10	0,60±0,0431	2
11	0,110±0,011	2
12	0,295±0,056	3

Studii CGRP (peptidă înrudită cu gena calcitonină) pe primate non-umane

Fluxul sanguin dermal indus de capsaicină (DBF) poate fi utilizat ca biomarker țintă de angajare pentru a evalua activitatea receptorului CGRP la primatele non-umane (NHP-uri). Metodele sunt adaptate din procedurile publicate mai devreme [Hershey și colab., Regulatory Peptides, volumul 127, Issue 1-3, pag. 71-77, 2005].

Populație de studiu: Studiile pe animale pot fi efectuate sub protocoalele aprobate de Covance Institutional Animal Care and Use Committee. NHP-urile cynomolgus pot fi utilizate dată fiind omologia strânsă între receptorul CGRP de NHP și uman. Populația de studiu poate include masculi NHP cynomolgus sănătoși, naivi antagoniști CGRP care cântăresc □3-4 kg.

NHP-urile cynomolgus sunt înscrise în studiu pe baza preanalizei la responsivitate la capsaicină. NHP-urile care au prezentat o creștere ≥50% în fluxul sanguin peste linia de bază cu tratament topic de capsaicină de 2 mg (20 μL/inel) (medie de 3 inele O) peste linia de bază ca

răspuns la capsaicină în brațul analizat și fiziologie stabilă în timpul perioadei de imagistică sunt incluse într-un studiu cu compusul din Exemplul 1. NHP-urile sunt utilizate într-un proiect încrucișat în care toate NHP-urile au primit toate dozele după o perioadă de eliminare de două săptămâni. Total n = 10 NHP-uri pe grup.

- 5 *Administrarea dozei.* Fiecare NHP primește vehicul, 0/3 3 și 30 mg/kg de antagonist din Exemplul 1 administrat oral (10% Acacia m/v/0,05% Antispumant 1510-US v/v/in PW) 90 min înainte de administrarea de capsaicină în experimentul imagistic Doppler cu laser (LDI).

- 10 *Luarea unei mostre de farmacodinamice.* Animalele sunt infometate peste noapte înainte de fiecare provocare cu capsaicină. Pe zi de experiment, NHP-urile sunt anesteziate cu 1% izofluran timp de aproximativ 30 min înainte de scanare. NHP-urile sunt plasate culcat pe spate într-o cameră liniștită, cu temperatură controlată pe o pătură chirurgicală caldă mică și brațul bărbierit este plasat pe un strat încălzit sub capacul laser. Trei inele O neoprene (dimensiunea = 8 mm ID) sunt plasate pe antebrațul NHP-urilor, aproximativ separat la 1 cm. În timpul unei perioade de stabilizare de 30 min, sunt obținute scanările preliminare pentru a confirma poziționarea corectă a inelelor O. Odată ce temperatura liniei de bază (aproximativ 37°C) este stabilizată, este colectată o scanare a liniei de bază. După ce scanarea liniei de bază este completată, 20 μl de soluție de capsaicină (50 mg de capsaicină într-o soluție de 170 μl EtOH, 80 μl TWEEN® 20, 250 μl de H₂O purificată) este aplicată fiecărui inel O. Scanarea a continuat la fiecare 5 min timp de 25 min suplimentare (85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, și 120 min după tratamentul cu compusul antagonist al receptorului CGRP).

- 20 *Analiză și statistici:* scanările LDI repetate sunt analizate utilizând software-ul Moor v.5.2 (Moor Instruments, Wilmington, DE) prin regiunea de analiză a semnalului de interes, și foile de lucru Microsoft Excel sunt utilizate pentru medierea semnalului din regiunile de interes la un moment dat de timp. Modificările în DBF sunt raportate ca modificări procentuale față de DBF a liniei de bază. Datele analizate sunt introduse în Graphpad PRISM® 4.0 pentru reprezentare grafică și un model de efecte amestecate de măsurări repetate în SAS® 9.1 este utilizat pentru analiza statistică. Datele sunt exprimate ca medie +/- SD.

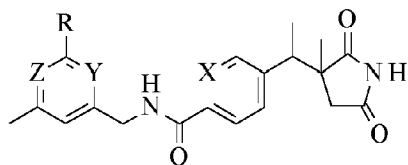
- 25 Utilizând un model de efecte amestecate cu măsurări repetate (corelație autoregresivă prin proces AR1) și ajustări false multiple ale ratei de descoperire, în comparație cu vehiculul cu compus din Exemplul 1 la 3 și 30 mg/kg dau o scădere statistic semnificativă a fluxului sanguin crescut după provocarea cu capsaicină cu o inhibare medie a grupului de 27,4% (p < 0,003) și respectiv 40,6% (p < 0,00001).

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- WO-A1-2012/129013

(57) Revendicări:

1. Un compus cu formula:



in care

Y este CH sau N;

Z este CH sau N;

cu condiția că atunci când Y este CH, Z este N și când Y este N, Z este CH;

X este CH sau N; și

R este alchil C1-C3, cicloalchil C3-C5, sau CN,

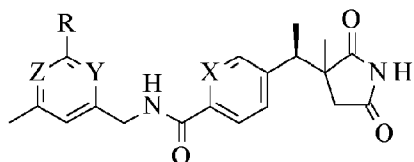
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

2. Compusul sau sarea în conformitate cu revendicarea 1 în care X este CH.

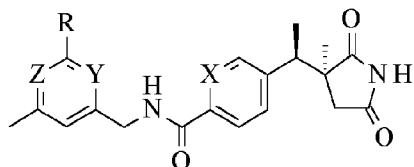
3. Compusul sau sarea în conformitate fie cu revendicarea 1 sau fie revendicarea 2 în care Y este CH și Z este N.

4. Compusul sau sarea în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 3 în care R este alchil C1-C3.

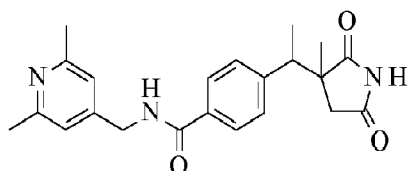
5. Compusul sau sarea în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 4 cu formula:



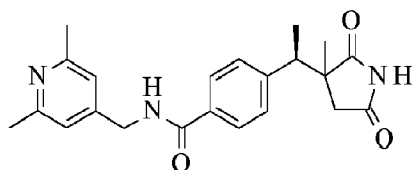
6. Compusul sau sarea în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 5 cu formula:



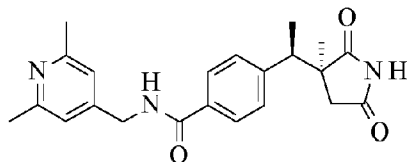
7. Compusul sau sarea în conformitate cu revendicarea 1 în care compusul este:



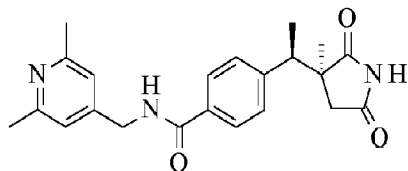
8. Compusul sau sarea în conformitate cu revendicarea 7 în care compusul este:



9. Compusul sau sarea în conformitate cu revendicarea 8 în care compusul este:

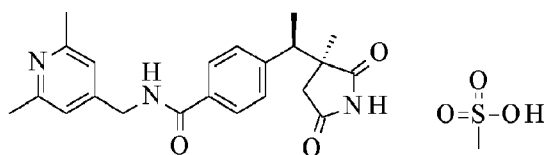


10. Compusul în conformitate cu revendicarea 9 care este:



11. Compusul în conformitate cu revendicarea 10 care este un anhidrat cristalin caracterizat printr-un maxim substanțial în spectrul de difracție cu raze X la unghi de difracție 2-teta de 13,4°, în combinație cu unul sau mai multe din maximele selectate din grupul constând din 14,4°, 18,1°, 19,4°, 20,9°, 21,2°, 21,5° și 26,5°, cu o toleranță pentru unghiurile de difracție de 0,2 măsurată cu sursă CuK-alfa.

12. Sarea în conformitate cu revendicarea 9 care este:



13. Sarea în conformitate cu revendicarea 12 care este cristalină caracterizată printr-un maxim substanțial în spectrul de difracție cu raze X la unghi de difracție 2-teta de la 18,8° în combinație cu unul sau mai multe din maximele selectate din grupul constând din 23,2°, 24,7°, și 15,2°; cu o toleranță pentru unghiurile de difracție de 0,2 grade, măsurată cu sursă CuK alfa.

14. Compusul sau sarea în conformitate cu oricare dintre revendicările 1-13 pentru utilizare în terapie.

15. Compusul sau sarea în conformitate cu oricare dintre revendicările 1-13 pentru utilizare în tratamentul migrenei.

16. Compusul sau sarea în conformitate cu oricare dintre revendicările 1-13 pentru utilizare în prevenirea migrenei.

17. O compoziție farmaceutică, cuprinzând un compus sau sare în conformitate cu oricare dintre revendicările 1-13 cu unul sau mai mulți purtători, diluanți, sau excipienți acceptabili farmaceutic.

18. Un procedeu pentru prepararea unei compoziții farmaceutice, cuprinzând amestecarea unui compus sau săruri în conformitate cu oricare dintre revendicările 1-13 cu unul sau mai mulți purtători, diluanți, sau excipienți acceptabili farmaceutic.