(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 008 091**

(51) Int. Cl.:

C07D 491/048 (2006.01)
A61K 31/4355 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.06.2021 PCT/IB2021/055184**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2021 WO21255608**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2021 E 21733558 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2024 EP 4165048**

(54) Título: **Compuestos de tipo 2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetradhidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como activadores de cav1.2**

(30) Prioridad:

16.06.2020 US 202063039691 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.03.2025

(73) Titular/es:

NOVARTIS AG (100.00%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

(72) Inventor/es:

CAYA, THOMAS CHARLES;
NEEF, JAMES;
PATHAK, TEJASKUMAR PANKAJBHAI;
SADAGHIANI, AMIR MASOUD;
ZHOU, XILIN y
PARK, HYE-YEON

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de tipo 2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetradhidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como activadores de cav1.2

1. CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La presente divulgación se refiere a compuestos de tipo 2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo, a composiciones farmacéuticas que los contienen y al uso de tales compuestos como activadores de $Ca_v1.2$ para el tratamiento del déficit de la señalización del calcio y/o la disfunción sináptica en trastornos psiquiátricos que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias; trastornos del desarrollo neurológico tales como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, síndrome de Phelan-McDermid y otros trastornos de espectro autista; trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple, demencia frontotemporal y enfermedad de Alzheimer; y afecciones cardíacas tales como el síndrome de Brugada, síndrome de QT corto y síndrome de repolarización temprana.

2. ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] Los avances en la genómica humana brindan más información sobre la base genética de los trastornos psiquiátricos. Estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) en la esquizofrenia han identificado más de cien loci asociados con la enfermedad, que incluyen Cav1.2 y otros genes involucrados en la señalización neuronal del calcio. Un análisis de GWAS para diferentes trastornos ha identificado que $Ca_v1.2$ y su subunidad beta formadora de canales *(CACNB2)* están fuertemente asociados con la esquizofrenia, el trastorno bipolar, el trastorno depresivo mayor, TDAH y trastornos de espectro autista. Además de las evidencias proporcionadas por GWAS, la secuenciación del exoma en pacientes con esquizofrenia mostró un enriquecimiento de las mutaciones disruptivas en $Ca_v1.2$ y otros miembros génicos de la vía neuronal de señalización del calcio, incluidos los genes CACNA2D, CACNB, CAMK2. Se ha demostrado que Cav1.2 es importante para la diferenciación y migración neuronal, el crecimiento neurítico, la señalización sináptica, la expresión génica y la plasticidad cerebral. Se ha demostrado que desempeña un papel en la emoción, el aprendizaje y la memoria, la función ejecutiva y las respuestas de recompensa del cerebro.

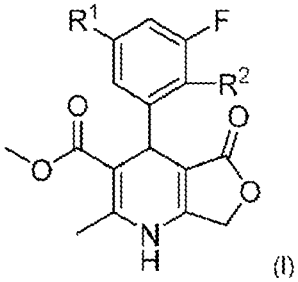
[0003] $Ca_v1.2$ se expresa ampliamente en todo el cuerpo y desempeña un papel importante en múltiples sistemas de órganos, incluido el sistema cardiovascular; sin embargo, la función fisiológica de $Ca_v1.2$ en el sistema cardiovascular es distinta de su función en el cerebro. Varios estudios han demostrado que $Ca_v1.2$ es un contribuyente clave para la generación del potencial de acción en el corazón, mientras que es un impulsor clave de la señalización intracelular y la expresión génica en las neuronas con una función mínima en la generación del potencial de acción. En el síndrome de Timothy, la mutación de $Ca_v1.2$ p.G406R conduce a fenotipos celulares distintos entre cardiomiocitos y neuronas. Las mutaciones de $Ca_v1.2$ que provocan trastornos cardiovasculares específicos (síndrome de Brugada y síndrome de QT largo de tipo 8) son evidencias adicionales de las funciones divergentes de $Ca_v1.2$ en el corazón y el cerebro.

[0004] Previamente, se han descrito activadores de los canales del calcio, pero investigaciones adicionales sobre su uso para los trastornos neuropsiquiátricos han sido limitadas debido a sus efectos en el sistema cardiovascular. De hecho, muchas de estas moléculas fueron inicialmente investigadas y desarrolladas por su uso terapéutico potencial en la insuficiencia cardíaca. La mayoría de los SNP de $Ca_v1.2$ asociados a los estudios psiquiátricos de GWAS residen en intrones del gen, y se ha demostrado que estos SNP de riesgo están asociados con la reducción de la expresión de ARNm que, en muchos casos, da como resultado una reducción global de la amplitud de la corriente de calcio. Por lo tanto, las moléculas de bajo peso molecular que puedan aumentar la amplitud global de la corriente podrían ser las más beneficiosas para los pacientes.

[0005] *Pharmaceutical Chemistry Journal* vol. 23 (11), 1989, págs. 893-896 divulga furo-1,4-dihidropiridinas y describe su actividad cardiotónica.

3. COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

[0006] El alcance de la invención se define en las reivindicaciones. Cualesquiera referencias en la descripción a métodos de tratamiento se refieren a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico). La presente divulgación proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula (I)



(I)

en donde:

R^1 es H o halo; y

R^2 es etilo, isopropilo, isopropenilo, ciclopropilo o ciclobutilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de uno o tres halo, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0007] En un segundo aspecto, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0008] En un tercer aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso en terapia, en particular en el tratamiento de trastornos psiquiátricos que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias; trastornos del desarrollo neurológico tales como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, síndrome de Phelan-McDermid y otros trastornos de espectro autista; trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple, demencia frontotemporal y enfermedad de Alzheimer; y afecciones cardíacas tales como el síndrome de Brugada, síndrome de QT corto y síndrome de repolarización temprana.

[0009] En un cuarto aspecto, la divulgación proporciona un método para el tratamiento de trastornos psiquiátricos que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias; trastornos del desarrollo neurológico tales como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, síndrome de Phelan-McDermid y otros trastornos de espectro autista; trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple, demencia frontotemporal y enfermedad de Alzheimer; y afecciones cardíacas tales como el síndrome de Brugada, síndrome de QT corto y síndrome de repolarización temprana, que comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, a un paciente que necesite tratamiento de estos.

[0010] En un quinto aspecto, la divulgación proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de trastornos psiquiátricos que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias; trastornos del desarrollo neurológico tales como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, síndrome de Phelan-McDermid y otros trastornos de espectro autista; trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple, demencia frontotemporal y enfermedad de Alzheimer; y afecciones cardíacas tales como el síndrome de Brugada, síndrome de QT corto y síndrome de repolarización temprana.

[0011] En un sexto aspecto, la divulgación proporciona un método para el tratamiento de esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana que comprende la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, a un paciente que necesite tratamiento de estos.

4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0012]

Figura 1: Ilustra potenciales de acción cardíaca simulados de un entorno epicárdico que muestran el impacto de cambiar el voltaje de activación de Cav1.2 a potenciales de membrana más negativos en una gráfica del potencial (mV) frente al tiempo (ms).

Figura 2: Ilustra el monocristal según rayos X del Ejemplo 14, 2-metil-5-oxo-4-fenil-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo, que confirma que el enantiómero activo es el enantiómero S.

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

5.1. Definiciones

[0013] Generalmente, la nomenclatura utilizada en el presente documento y los procedimientos de laboratorio en química orgánica, química médica y farmacología que se describen en el presente documento son los que son muy conocidos y se emplean habitualmente en la técnica. A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen generalmente el mismo significado que el que interpreta normalmente un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta divulgación.

[0014] Tal como se utiliza en el presente documento, «administrar» se refiere a la manera en que un compuesto descrito en el presente documento se presenta a un sujeto.

[0015] Tal como se utiliza en el presente documento, «opcionalmente sustituido» significa que el grupo al que se hace referencia puede estar sustituido en una o más posiciones con uno o cualquier combinación de los radicales que se enumeran a continuación.

[0016] Tal como se utiliza en el presente documento, «halo», tal como se utiliza en el presente documento, puede ser flúor, cloro, bromo o yodo.

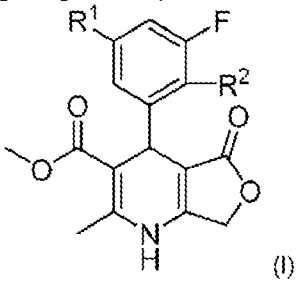
[0017] Tal como se utiliza en el presente documento, «sujeto» o «paciente» se refiere a un organismo vivo que padece una o más de las enfermedades o trastornos que se describen en el presente documento (p. ej., trastornos psiquiátricos que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias; trastornos del desarrollo neurológico tales como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, síndrome de Phelan-McDermid y otros trastornos de espectro autista; trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple, demencia frontotemporal y enfermedad de Alzheimer; y afecciones cardíacas tales como el síndrome de Brugada, síndrome de QT corto y síndrome de repolarización temprana) que se pueden tratar mediante la administración de una composición farmacéutica descrita en el presente documento. Los ejemplos de sujetos incluyen mamíferos (p. ej., seres humanos y animales tales como perros, vacas, caballos, monos, cerdos, ovejas, cabras, gatos, ratones, conejos, ratas y animales no humanos transgénicos). En ciertas realizaciones, el sujeto es un ser humano, p. ej., un ser humano que padece, corre el riesgo de padecer o potencialmente puede padecer una enfermedad descrita en el presente documento (p. ej., trastornos psiquiátricos que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias; trastornos del desarrollo neurológico tales como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, síndrome de Phelan-McDermid y otros trastornos de espectro autista; trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple, demencia frontotemporal y enfermedad de Alzheimer; y afecciones cardíacas tales como el síndrome de Brugada, síndrome de QT corto y síndrome de repolarización temprana).

[0018] A lo largo de esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que figuran más adelante, a menos que el contexto requiera otra cosa, se entenderá que la palabra «comprender» o variaciones tales como «comprende» o «que comprende/n» implican la inclusión de un elemento integrante o paso o grupo de elementos integrantes o pasos indicados, pero no la exclusión de ningún otro elemento integrante o paso o grupo de elementos integrantes o pasos.

[0019] Si existe una discrepancia entre una estructura representada y un nombre químico dado a esa estructura, se le debe dar más peso a la estructura representada. Además, si la estereoquímica de una estructura o una parte de una estructura no se indica con, por ejemplo, líneas en negrita o discontinuas, debe interpretarse que la estructura o parte de la estructura abarca todos los estereoisómeros de la estructura o parte de la estructura.

5.2. Compuestos

[0020] Un compuesto de acuerdo con la fórmula (I)



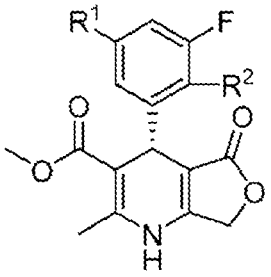
(I)

en donde:

R^1 es H o halo; y

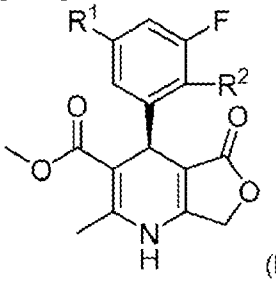
R^2 es etilo, isopropilo, isopropenilo, ciclopropilo o ciclobutilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de uno o tres halo, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0021] Una realización es un compuesto de fórmula (Ia)



(Ia)

[0022] Otra realización es un compuesto de fórmula (Ib)



(Ib)

[0023] En otra realización, R^1 es H o F.

[0024] En otra realización, R^1 es H.

[0025] En otra realización, R^1 es F.

[0026] En otra realización, R^2 es etilo, isopropilo, isopropenilo, ciclopropilo o ciclobutilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

[0027] En otra realización, R^2 es ciclopropilo opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

[0028] En otra realización, R^2 es etilo opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

[0029] En otra realización, R^2 es isopropilo opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

[0030] Los compuestos específicos incluyen:
(S)-4-(2-((R)-2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((S)-2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-ciclopropil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((R)-2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((S)-2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-((S)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-((R)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetilo)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-((S)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-((R)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((R)-1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;

(S)-4-(2-((S)-1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-etil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-ciclopropil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-(2,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo; y
(S)-4-(3-fluoro-2-(3-fluorociclobutilo)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo.

[0031] Dependiendo de la elección de los materiales de partida y los procedimientos, los compuestos pueden estar presentes en forma de uno de los posibles estereoisómeros o como mezclas de estos, por ejemplo, como isómeros ópticos puros, o como mezclas de estereoisómeros tales como racematos y mezclas de diastereoisómeros, dependiendo del número de átomos de carbono asimétricos. Se pretende que la presente divulgación incluya todos estos posibles estereoisómeros, incluidas mezclas racémicas, mezclas diastereoisoméricas y formas ópticamente puras. Se pueden preparar estereoisómeros (R) y (S) ópticamente activos utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver utilizando técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede tener una configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente del cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans. También se pretende que todas las formas tautoméricas estén incluidas.

[0032] Tal como se utilizan en el presente documento, los términos «sal» o «sales» se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base de un compuesto de la presente divulgación. Las «sales» incluyen en particular «sales farmacéuticamente aceptables». La expresión «sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de esta divulgación y que normalmente no son biológicamente o de otro modo indeseadas. En muchos casos, los compuestos de la presente divulgación son capaces de formar sales con ácidos y/o con bases en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a estos.

[0033] Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos.

[0034] Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden obtener sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.

[0035] Los ácidos orgánicos a partir de los cuales se pueden obtener sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico y similares.

[0036] Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas.

[0037] Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden obtener sales incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la Tabla Periódica. En determinadas realizaciones, las sales se obtienen a partir de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc y cobre; las sales particularmente adecuadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

[0038] Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden obtener sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio iónico básicas y similares. Determinadas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

[0039] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona compuestos de la presente divulgación en forma de sal de tipo acetato, ascorbato, adipato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, alcanforsulfonato, caprato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, glutamato, glutarato, glicolato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato,

lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, poligalacturonato, propionato, sebacato, estearato, succinato, sulfosalicilato, sulfato, tartrato, tosilato, trifenatato, trifluoroacetato o xinafoato.

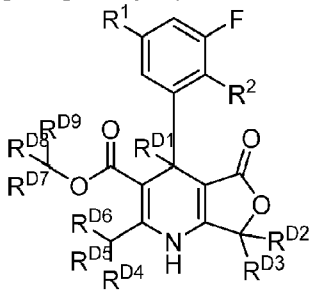
[0040] Los compuestos de la divulgación, es decir, los compuestos de fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptores de puentes de hidrógeno, pueden ser capaces de formar cocristales con formadores de cocristales adecuados. Estos cocristales se pueden preparar a partir de los compuestos de fórmula (I) mediante procedimientos conocidos de formación de cocristales. Los procedimientos de este tipo incluyen triturar, calentar, cosublimar, cofundir o poner en contacto en solución los compuestos de fórmula (I) con el formador de cocristales en condiciones de cristalización y aislar los cocristales formados de esta manera. Los formadores de cocristales adecuados incluyen los descritos en el documento WO 2004/078163. Por lo tanto, la divulgación proporciona además cocristales que comprenden un compuesto de fórmula (I).

[0041] Además, los compuestos de la presente divulgación, incluidas sus sales, también se pueden obtener en forma de sus hidratos o incluir otros disolventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la presente divulgación pueden inherentemente o por diseño formar solvatos con disolventes farmacéuticamente aceptables (que incluyen agua); por lo tanto, se pretende que la divulgación abarque formas tanto solvatadas como no solvatadas. El término «solvato» se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente divulgación (incluidas las sales farmacéuticamente aceptables de este) con una o más moléculas de disolvente. Las moléculas de disolvente de este tipo son las que se utilizan comúnmente en la técnica farmacéutica, que se sabe que son inocuas para el receptor, p. ej., agua, etanol y similares. El término «hidrato» se refiere al complejo en el que la molécula de disolvente es agua.

[0042] La divulgación incluye formas no marcadas así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos de fórmula (I). Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas proporcionadas en el presente documento, excepto por que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico seleccionados. Los isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la divulgación incluyen, por ejemplo, isótopos de hidrógeno.

[0043] Además, la incorporación de determinados isótopos, particularmente deuterio (es decir, ^{2}H o D) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas como resultado de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una semivida *in vivo* aumentada o requisitos de dosificación reducidos o una mejora en el índice terapéutico o la tolerabilidad. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera un sustituyente de un compuesto de la presente divulgación. La concentración de deuterio se puede definir mediante el factor de enriquecimiento isotópico. La expresión «factor de enriquecimiento isotópico», tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo específico. Si se indica que un sustituyente en un compuesto de esta divulgación es deuterio, tal compuesto tendrá un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52,5 % de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60 % de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67,5 % de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75 % de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82,5 % de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90 % de incorporación de deuterio), al menos 6333,3 (95 % de incorporación de deuterio), al menos 6466,7 (97 % de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99 % de incorporación de deuterio) o al menos 6633,3 (99,5 % de incorporación de deuterio). Debe entenderse que la expresión «factor de enriquecimiento isotópico» se puede aplicar a cualquier isótopo de la misma manera que se describe para el deuterio.

[0044] Por ejemplo, la fórmula (I) se deutera como se muestra en la fórmula (II):



(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, en donde R^1 y R^2 son como se definen en la fórmula (I); R^{D1} a R^{D9} son cada uno independientemente H o D.

[0045] Otros ejemplos de isótopos que se pueden incorporar a los compuestos de la divulgación incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro tales como ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I, respectivamente. En consecuencia, debe entenderse que la divulgación incluye compuestos que

incorporan uno o más de cualquiera de los isótopos mencionados anteriormente, incluidos, por ejemplo, isótopos radiactivos, tales como ^{3}H y ^{14}C, o aquellos en los que están presentes isótopos no radiactivos, tales como ^{2}H y ^{13}C. Tales compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C), estudios de cinética de la reacción (con, por ejemplo, ^{2}H o ^{3}H), técnicas de detección o formación de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), que incluyen ensayos de distribución de fármacos o sustratos en tejidos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. En particular, un compuesto marcado o ^{18}F puede ser particularmente deseable para estudios de PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de la presente divulgación se pueden preparar generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos utilizando reactivos marcados isotópicamente adecuados en lugar del reactivo sin marcar empleado anteriormente.

[0046] Cualquier átomo asimétrico (p. ej., carbono o similares) del (de los) compuesto(s) de la presente divulgación puede estar presente en forma racémica o enantioméricamente enriquecida, por ejemplo, la configuración (R), (S) o (R,S). En determinadas realizaciones, cada átomo asimétrico tiene al menos un 50 % de exceso enantiomérico, al menos un 60 % de exceso enantiomérico, al menos un 70 % de exceso enantiomérico, al menos un 80 % de exceso enantiomérico, al menos un 90 % de exceso enantiomérico, al menos un 95 % de exceso enantiomérico o al menos un 99 % de exceso enantiomérico en la configuración (R) o (S). Los sustituyentes en átomos con dobles enlaces insaturados pueden, si es posible, estar presentes en forma *cis* (*Z*) o *trans* (*E*).

[0047] En consecuencia, tal como se utiliza en el presente documento, un compuesto de la presente divulgación puede estar en forma de uno de los posibles estereoisómeros, rotámeros, atropisómeros, tautómeros o mezclas de estos, por ejemplo, como racematos, isómeros ópticos (enantiómeros), diastereómeros, estereoisómeros geométricos (*cis* o *trans*) sustancialmente puros o mezclas de estos.

[0048] Cualesquiera mezclas resultantes de los estereoisómeros se pueden separar en función de las diferencias fisicoquímicas de los componentes en los isómeros ópticos o geométricos, diastereómeros y racematos puros o sustancialmente puros, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada.

[0049] Cualesquiera racematos resultantes de los compuestos de la presente divulgación o de intermedios se puede resolver en los enantiómeros ópticos mediante métodos conocidos, p. ej., mediante una separación de las sales diastereoméricas de estos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activo, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, se puede emplear, por lo tanto, un resto de carácter básico para resolver los compuestos de la presente divulgación en sus enantiómeros ópticos, p. ej., mediante cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, p. ej., ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido diacetiltartárico, ácido di-*O,O'-p*-toluoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido canfor-10-sulfónico. Los compuestos racémicos de la presente divulgación o los intermedios racémicos también se pueden resolver mediante cromatografía quiral, p. ej., cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando un adsorbente quiral.

5.3. Métodos de uso

[0050] Los compuestos de la presente divulgación en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, presentan propiedades farmacológicas valiosas, p. ej., propiedades activadoras de Cav1.2, p. ej., como indican las pruebas *in vitro* e *in vivo* que se proporcionan en las siguientes secciones y, por tanto, están indicados para terapia o para uso como productos químicos de investigación, p. ej., como compuestos de referencia.

[0051] Los compuestos de la presente divulgación pueden ser útiles en el tratamiento de una afección seleccionada de la siguiente lista: trastornos psiquiátricos que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias;

trastornos del desarrollo neurológico tales como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, síndrome de Phelan-McDermid y otros trastornos de espectro autista;

trastornos neurodegenerativos tales como esclerosis múltiple, demencia frontotemporal y enfermedad de Alzheimer; y

afecciones cardíacas tales como el síndrome de Brugada, síndrome de QT corto y síndrome de repolarización temprana. En una realización, la afección es un trastorno psiquiátrico tal como esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor y trastornos relacionados con el uso de sustancias. En otra realización, la afección es esquizofrenia o trastorno bipolar.

[0052] Por tanto, como un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona entre una enfermedad que se puede tratar mediante la activación de $Ca_V1.2$. En otra realización, la enfermedad se selecciona de la lista de afecciones mencionada anteriormente.

[0053] Por tanto, como un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona entre una enfermedad que se puede tratar mediante la activación de $Ca_v1.2$. En otra realización, la enfermedad se selecciona de la lista de afecciones mencionada anteriormente.

[0054] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad que se trata mediante la activación de Cav1.2, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En una realización adicional, la enfermedad se selecciona de la lista de afecciones mencionada anteriormente.

[0055] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad que se trata mediante la activación de Cav1.2, que comprende la administración de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En una realización adicional, la enfermedad se selecciona de la lista de afecciones mencionada anteriormente.

[0056] Por lo tanto, como un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este para la elaboración de un medicamento. En una realización adicional, el medicamento es para el tratamiento de una enfermedad que se puede tratar mediante la activación de $Ca_v1.2$. En otra realización, la enfermedad se selecciona de la lista de afecciones mencionada anteriormente.

[0057] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana que se trata mediante la activación de $Ca_v1.2$ que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0058] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana que se trata mediante la activación de $Ca_v1.2$ que comprende la administración de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0059] Por lo tanto, como un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este para tratar una enfermedad seleccionada entre esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana.

[0060] Por lo tanto, como un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana.

[0061] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0062] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana que comprende la administración de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0063] Por lo tanto, como un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de la presente divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable de este para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia

frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana.

5.4. Composiciones farmacéuticas

[0064] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la composición comprende al menos dos portadores farmacéuticamente aceptables, tales como los descritos en el presente documento. La composición farmacéutica se puede formular para vías de administración particulares tales como administración oral, administración parenteral (p. ej., mediante inyección, infusión, administración transdérmica o tópica), y administración rectal. La administración tópica también puede referirse a la aplicación por inhalación o intranasal. Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se pueden preparar en forma sólida (que incluye, sin limitación, cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios) o en forma líquida (que incluye, sin limitación, soluciones, suspensiones o emulsiones). Los comprimidos pueden estar recubiertos con película o con revestimiento entérico de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Normalmente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con uno o más de:

a) diluyentes, p. ej., lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;
b) lubricantes, p. ej., sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos, también
c) aglutinantes, p. ej., silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona; si se desea
d) disgregantes, p. ej., almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y
e) absorbentes, colorantes, aromas y edulcorantes.

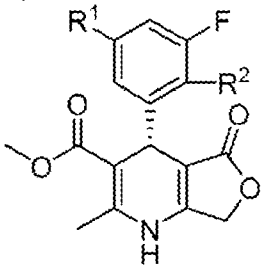
[0065] La combinación o composición farmacéutica de la presente divulgación puede estar en una dosis unitaria de aproximadamente 1-1000 mg del (de los) principio(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50-70 kg, o de aproximadamente 1-500 mg o de aproximadamente 1-250 mg o de aproximadamente 1-150 mg o de aproximadamente 0,5-100 mg, o de aproximadamente 1-50 mg de los principios activos. La dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto, la composición farmacéutica, o las combinaciones de estos, depende de la especie del sujeto, el peso corporal, la edad y la condición individual, el trastorno o la enfermedad o la gravedad de este que se esté tratando. Un médico, facultativo o veterinario con experiencia ordinaria puede determinar fácilmente la cantidad eficaz de cada uno de los principios activos necesaria para prevenir, tratar o inhibir el avance del trastorno o enfermedad.

[0066] Las propiedades de la dosis citadas anteriormente son demostrables en ensayos *in vitro* e *in vivo* que utilizan convenientemente mamíferos, p. ej., ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparaciones de estos. Los compuestos de la presente divulgación se pueden aplicar *in vitro* en forma de soluciones, p. ej., soluciones acuosas, e *in vivo* ya sea por vía enteral, parenteral, ventajosamente por vía intravenosa, p. ej., como una suspensión o en solución acuosa. La dosis *in vitro* puede variar entre concentraciones de aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar. Una cantidad terapéuticamente eficaz *in vivo* puede variar en función de la vía de administración, entre aproximadamente 0,1-500 mg/kg, o entre aproximadamente 1-100 mg/kg.

6. Intermedios y Ejemplos

[0067] Se pretende que los siguientes ejemplos ilustren la divulgación y no se deben interpretar como limitaciones de esta.

[0068] Todos los ejemplos se separaron en sus enantiómeros individuales y se evaluaron en el ensayo de Sophion QPatch que se describe en la sección de Datos biológicos más adelante. Sin embargo, no se determinó la estereoquímica de cada enantiómero. La estereoquímica del Ejemplo 14, 2-metil-5-oxo-4-fenil-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo, se determinó mediante análisis cristalográfico de rayos X de monocristal y se confirmó que el enantiómero activo es el enantiómero S (Figura 2). Por lo tanto, se supone que el enantiómero S de 2-metil-5-oxo-4-fenil-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo, que se representa a continuación, es el enantiómero activo en todos los Ejemplos.



(S)-2-metil-5-oxo-4-fenil-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0069] Los números de los ejemplos (Ejemplo 1, 2, 3, etc.) se dan para los enantiómeros activos que se supone que tienen todos ellos la configuración S. A todos los demás isómeros aislados de la síntesis se les dieron números de ejemplos con letras (Ejemplo 1b, 2b, 3b, etc.). Aunque existen evidencias contundentes que sugieren que la configuración S es la estereoquímica deseada, sigue existiendo la posibilidad de que el enantiómero R pueda ser el enantiómero activo en algunos de los Ejemplos.

[0070] Las temperaturas se indican en grados centígrados. Si no se menciona lo contrario, todas las evaporaciones se realizan a presión reducida, normalmente entre aproximadamente 15 mm de Hg y 100 mm de Hg (= 20-133 mbar). La estructura de los productos finales, intermedios y materiales de partida se confirma mediante métodos analíticos convencionales, p. ej., microanálisis y características espectroscópicas, p. ej., MS, IR, RMN.

[0071] Todos los materiales de partida, bloques estructurales, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, disolventes y catalizadores utilizados para sintetizar los compuestos de la presente divulgación se pueden adquirir de proveedores comerciales o se pueden producir mediante métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto en la técnica. Además, los compuestos de la presente divulgación se pueden producir mediante métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto en la técnica tal como se muestra en los siguientes ejemplos. Las abreviaturas utilizadas son las convencionales en la técnica o las siguientes:

^{1}H RMN
: resonancia magnética nuclear de protón

AUX
: subunidad auxiliar del canal de $Ca_V1.2$

C
: centígrados

CD3OD
: metanol-d4

CDCl3
: cloroformo-d

CHO
: células de ovario de hámster chino

Ct
: ciclo umbral en un ensayo cuantitativo de reacción en cadena de la polimerasa

d
: doblete

DAST
: trifluoruro de dietilaminoazufre

DCM
: diclorometano

dd
: doblete de dobletes

DME
: 1,4-dimetoxietano

DMEM
: medio de Eagle modificado por Dulbecco

DMF
: N,N-dimetilformamida

DMSO
: sulfóxido de dimetilo

DMSO-d6
: sulfóxido de dimetilo-d6

D-PBS
: solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco

EC50
: concentración a la que se observa la mitad de la eficacia máxima

EDTA
: ácido etilendiaminotetraacético

EGTA
: ácido etilenglicol-bis(éter β-aminoetílico)-N,N,N',N'-tetraacético

Eq.
: equivalentes

EtOAc
: acetato de etilo

FAM
: 6-carboxifluoresceína

FCS	sitio de escisión de furina
FRT	sitio diana de reconocimiento de flipasas
g	gramo
h	hora(s)
H_2O	agua
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfónico
HOBt	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución
h	horas
Hz	hercio
IACUC	Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales
IPA	alcohol isopropílico
kg	kilogramo
L	litro
LCMS	cromatografía líquida-espectrometría de masas
M	molar
m	multiplete
m/z	relación entre masa y carga
mg	miligramo
MHz	megahercios
min	minutos
mL	mililitros
ml	mililitros
mL/min	mililitros por minuto
mm	milímetro
mM	milimolar
mmol	milimoles
ARNm	ácido ribonucleico mensajero
MS	espectrometría de masas
mV	millivoltio µl microlitro
N	normal
n-BuLi	

n-butillitio

RMN
resonancia magnética nuclear

NOESY
espectroscopía de efecto Overhauser nuclear

pCMV
el promotor de citomegalovirus

P2A
una secuencia de autoescisión peptídica obtenida a partir del tescovirus-1 porcino

PdCl2(dppf)
dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II)

PD
Farmacodinámica

PK
Farmacocinética

ppm
partes por millón

PyBOP
hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio

QT
el intervalo de tiempo entre la onda Q y la onda T de un electrocardiograma

rac.
racémico

rpm
revolución por minuto

ARN
ácido ribonucleico

TA
temperatura ambiente

t_R
tiempo de retención

RT-PCR
Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa

s
singlete

SFC
cromatografía de fluidos supercríticos

SFM
medio exento de suero

SNP
polimorfismo de un solo nucleótido

t
triplete

TFA
ácido trifluoroacético

THF
tetrahidrofurano

THF
tetrahidrofurano

uL
microlitros

Um
micrómetro

UPLC
cromatografía líquida de ultra resolución

UV
ultravioleta

VIC
2'-cloro-7'-fenil-1,4-dicloro-6-carboxifluoresceína

v/v
porcentaje en volumen/volumen

Cristalografía de rayos X de moléculas de bajo peso molecular

Recolección de datos

[0072] Los datos de intensidad se recolectaron a 100 K en un difractómetro de tres círculos Bruker AXS con radiación Cu(Kα) monocromada, generador de microfoco con ánodo rotatorio y un detector Smart 6000 CCD utilizando el software SMART (Bruker AXS (2003)). Se realizaron 16 barridos ω en diferentes posiciones de φ para garantizar una redundancia adecuada de los datos. El procesamiento de datos y el refinamiento global de células se realizaron con Saint (Bruker AXS (2012)). Se aplicó una corrección de absorción semiempírica, basada en las intensidades de reflexiones relacionadas con la simetría medidas en diferentes configuraciones angulares, utilizando SADABS versión 2016/2 (Krause L (2015)). El coeficiente de extinción se refinó a 0,00048(11). Se enumeran los datos cristalinos, los parámetros de recolección de datos y los resultados de convergencia.

Resolución y refinamiento de la estructura

[0073] La estructura se resolvió mediante métodos de reciclaje de espacio dual y síntesis de DF posteriores y se refinó en base a mínimos cuadrados de matriz completa en F2 utilizando el paquete de programas SHELXTL (Sheldrick GM (2001)) con SHELXL-2013/4.

Referencias:

[0074]

Allen FH, Kennard O, Watson D *et al* (1987) «Tables of Bond Lengths determined by X-Ray and Neutron Diffraction. Part 1, Bond Lengths in Organic Compounds». *J. Chem. Soc. Perkin Trans II*; S1-S19.
Bruker AXS (2005) SMART V5.632. Bruker AXS Inc., Madison, WI, EE. UU.
Bruker AXS (2012) SAINT V7.36A. Bruker AXS Inc., Madison, WI, EE. UU.
Krause L, Herbst-Irmer R, Sheldrick GM *et al* (2015) «Comparison of silver and molybdenum microfocus X-ray sources for single-crystal structure determination». *J. Appl. Cryst.*; 48: 3-10. Spek AL (2003) «Single-crystal structure validation with the program PLATON». *J. Appl. Cryst.*; 36: 7-13.
Sheldrick GM (2001) SHELXTL V6.12. Bruker AXS Inc.. Madison, WI, EE. UU.

Método 1 de LCMS:

[0075] Instrumento: UPLC Waters Acquity, detector de matriz de fotodiodos; columna: Acquity UPLC BEH C_{18} 1,7 µm, 21x30 mm; 2 min de tiempo de ejecución, 2 % de disolvente B desde 0 hasta 0,1 min, 2 --> 98 % de disolvente B:disolvente A desde 0,1 hasta 1,8 min, 98 % de disolvente B durante 0,2 min. Disolventes: disolvente A = 0,1 % de ácido fórmico en agua (v/v), disolvente B = 0,1 % de ácido fórmico en acetonitrilo (v/v). Volumen de inyección 2-5 uL; matriz de detección UV 210-400, detección de masas 120-1250 (ionización por electronebulización); columna a 50 °C; caudal 1,0 mL/min.

Método 2 de LCMS:

[0076] Instrumento: UPLC Waters Acquity, detector de matriz de fotodiodos; columna: Acquity UPLC BEH C_{18} 1,7 µm, 21x50 mm; 2 min de tiempo de ejecución, 2 % de disolvente B desde 0 hasta 0,1 min, 2 --> 98 % de disolvente B:disolvente A desde 0,1 hasta 1,8 min, 98 % de disolvente B durante 0,2 min. Disolventes: disolvente A = hidróxido de amonio 5 mM en agua, disolvente B = hidróxido de amonio 5 mM en acetonitrilo. Volumen de inyección 2-5 uL; matriz de detección UV 210-400, detección de masas 120-1250 (ionización por electronebulización); columna a 50 °C; caudal 1,0 mL/min.

Método 3 de LCMS:

[0077] Instrumento: Waters Acquity UPLC, detector de matriz de fotodiodos; columna Acquity UPLC BEH C_{18} 1,7 µm 21x30 mm; 5,2 min de tiempo de ejecución, 2 -> 98 % de disolvente B:disolvente A desde 0 hasta 5,15 min, 98 % de disolvente B desde 5,15 hasta 5,20 min. Disolventes: disolvente A = 0,1 % de ácido fórmico en agua (v/v), disolvente B = 0,1 % de ácido fórmico en acetonitrilo (v/v). Volumen de inyección 2-5 uL; matriz de detección UV 210-400, detección de masas 120-1600; columna a 50 °C; caudal 1,0 mL/min.

Método 4 de LCMS:

[0078] Instrumento: Waters Acquity UPLC, detector de matriz de fotodiodos; columna Acquity UPLC BEH C_{18} 1,7 µm 21x30 mm; 5,2 min de tiempo de ejecución, 2 -> 98 % de disolvente B:disolvente A desde 0 hasta 5,15 min, 98 % de disolvente B desde 5,15 hasta 5,20 min. Disolventes: disolvente A = hidróxido de amonio 5 mM en agua, disolvente B = hidróxido de amonio 5 mM en acetonitrilo. Volumen de inyección 2-5 uL; matriz de detección UV 210-400, detección de masas 120-1600; columna a 50 °C; caudal 1,0 mL/min.

Método 5 de LCMS:

[0079] Instrumento: Agilent 1200 LC/G1956A, detector de matriz de diodos; columna: Chromolith Flash C_{18}, 1,6 micras 2x25 mm; 1,5 minutos de tiempo de ejecución, 5 – 95 % de disolvente B: disolvente A desde 0 -- 1,2 minutos y a continuación 95 % de disolvente B desde 1,21 – 1,5 minutos. Disolventes: disolvente A = 0,0375 % de TFA en agua (v/v), disolvente B = 0,01875 % de TFA en acetonitrilo (v/v). Volumen de inyección 2-5 uL; detección UV 220 y 254 nm, detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); columna a 50 °C; caudal 1,5 mL/min.

Método 6 de LCMS:

[0080] Instrumento: SHIMADZU LCMS-2020, detector de matriz de fotodiodos; columna: Kinetex EVO C_{18}, 5 µm, 1x30 mm; 1,55 minutos de tiempo de ejecución, 5 -> 95 % de disolvente B: disolvente A desde 0 -> 1,20 minutos y a continuación 95 % de disolvente B desde 1,21 minutos hasta 1,55 minutos. Disolventes: disolvente A= 0,025 % de NH_4OH en agua (v/v), disolvente B= acetonitrilo. Volumen de inyección 2-5 uL; detección UV 220 y 254 nm, detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); columna a 40 °C; caudal 1,5 mL/min.

Método 7 de LCMS:

[0081] Instrumento: API2000, columna: Mercury MS Synergi 2 µm, 20X4,0mm, C12; gradiente: A- 0,1 % de ácido fórmico en agua/B- acetonitrilo: Tiempo/% de B: 0,0/30, 0,5/30, 1,5/95, 2,0/95, 2,5/30, 3,0/30, flujo 2,0 mL/ min; matriz de detección UV 190-400, detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); temperatura de la columna 30 °C.

Método 8 de LCMS:

[0082] Instrumento: API3000, columna: Synergi 2,5 µm MAX-RP, 20x4,0mm 100 A Mercury; gradiente: 0,1 % de ácido fórmico en agua, B: acetonitrilo: Tiempo % de B 0/10, 0,5/20, 1,5/95, 2,0/95, 2,5/10, 3/10, flujo 2,0 mL/ min; matriz de detección UV 190-400 (cromatograma de longitud de onda total), detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); temperatura de la columna 30 °C.

Método 9 de LCMS:

[0083] Instrumento: API3000, columna: Synergi 2,5 µm, 50x4,6mm, MAX-RP 100 A ; gradiente: 0,1 % de ácido fórmico en agua, B: acetonitrilo: Tiempo 0,0/10, 0,2/50, 1,0/95, 1,5/100, 2,5/95, 2,9/50, 3,2/10, 4/10, flujo 1,2 mL/ min; matriz de detección UV 190-400 (cromatograma de longitud de onda total), detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); temperatura de la columna 30 °C.

Método 10 de LCMS:

[0084] Shimadzu, columna: Mercury MS Synergi 2,5 µm, 20X4,0mm, C12; gradiente: A- 0,1 % de ácido fórmico en agua/B- acetonitrilo: Tiempo/% de B: 0,1/5, 0,5/5,1,0/95,1,5/95,2,0/5,3,0/5, flujo 2,0 mL/min; matriz de detección UV 200-400, detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); temperatura de la columna 40 °C.

Método 11 de LCMS:

[0085] Shimadzu, columna: Kinetex 5 µm EVO C18 100A, (100x2,1 mm); gradiente: A- 0,1 % de ácido fórmico en agua/B- acetonitrilo: Tiempo/% de B: 0/5, 1/30, 3/95, 4/95, 4,1/5, 6/5, flujo 1,4 mL/min; matriz de detección UV 200-400, detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); temperatura de la columna 40 °C.

Método 12 de LCMS:

[0086] Shimadzu, columna: Synergi 2,5 µm MAX-RP 100 A, (20x4,0mm) Mercury; gradiente: A- 0,1 % de ácido fórmico en agua/B- acetonitrilo: Tiempo/% de B: 0,1/5, 0,5/5, 1,0/95, 1,5/95, 2,0/5, 3,0/5, flujo 2,0 mL/min; matriz de detección UV 200-400, detección de masas 100-1000 (ionización por electronebulización); temperatura de la columna 40 °C.

Método 13 de LCMS:

[0087] Acquity, columna: UPLC BEH C18 1,7 µm 2,1x50mm; gradiente: A- 0, 1 % de ácido fórmico en agua/B- acetonitrilo: 2,2 min de tiempo de ejecución, 2 -> 98 % de disolvente B: disolvente A desde 0 -> 1,76 minutos y a continuación 95 % de disolvente B desde 1,76 minutos hasta 2,0 minutos; flujo 1,0 mL/min; matriz de detección UV 210-400 nm; intervalo de masas 100-2050 Da; HRMS_2min; temperatura de la columna 50 °C

Métodos de HPLC preparativa para la purificación:

[0088]

Método 1: Columna de HPLC: XBRIDGE -C18 (19,0 x 150 mm, 5 micras), fase móvil A: 0,1 % de TFA en H_2O, B: CH_3CN, gradiente (tiempo / % de B): 0/20, 2/20, 8/50, caudal: [19 mL / min].
Método 2: Columna de HPLC: ZORBAX ECLIPSE XDB C18 (21,2 x 150 mm, 5 micras), fase móvil A: 0,1 % de TFA en H_2O, B: CH_3CN, gradiente (tiempo / % de B): 0/10, 2/20, 10/40 y caudal: [20 mL / min].
Método 3: Columna de HPLC: XBRIDGE C18 (21,2 x 150 mm, 5 micras), fase móvil A: NH_4HCO_3 10 mM en agua, B: CH_3CN, gradiente (tiempo / % de B): 0/10, 2/20, 8/50 y caudal: [18 mL / min].
Método 4: Columna de HPLC: Gemini NX C18 (21,2 x 150,00 mm, 5 micras); fase móvil (A): 0,1 % de TFA en agua, (B): acetonitrilo/metanol; flujo: 15 ml/min; (tiempo/% de B 0/20, 2/20, 8/20)
Método 5: Columna de HPLC: KINETEX EVO 5 µ C18 (21,2 × 150 mm), fase móvil: AGUA (A) CH_3CN (B), gradiente (tiempo / % de B): 0/20, 2/30, 7/70 y caudal: [18 mL / min].
Método 6: Columna de HPLC: KINETEX C18, (21,2 × 150mm), fases móviles: A: AGUA, B: CH_3CN:MeOH, gradiente (tiempo / % de B): 0/20, 2/30, 7/70, caudal: [18 mL/min].
Método 7: Columna de HPLC: KINETEX (21,2 x 150 mm, 5 micras), fases móviles: A = 0,05 % de TFA en agua, B = CH_3CN, gradiente (tiempo / % de B): 0/20, 2/30, 10/60, caudal: [20 mL/min].

Métodos de HPLC preparativa quiral para la separación de isómeros:

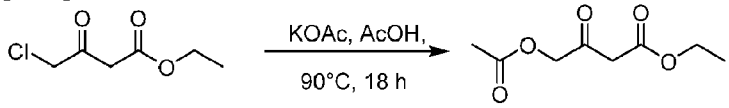
[0089]

Método 1: Columna: CHIRALPAK IC (10 × 250 mm, 5 micras), fase móvil: hexano (A) IPA: MeOH,1:1 (B); caudal : 8 mL/min; isocrático: 96:04(A: B).
Método 2: Columna: REGIS WELKO (250 × 10mm, 5 micras), fase móvil: hexano (A): EtOH, 1:1 (B); caudal : 9 mL/min; isocrático: 85:15(A: B).
Método 3: Columna: CHIRALPAC IG (250 × 10mm, 5 micras), fase móvil: IPA (A): MeOH,1:1 (B); caudal : 6 mL/min; isocrático: 98:2(A: B).
Método 4: Columna: LUX CELLULOSE-4 (10 × 250 mm, 5 micras), fase móvil: hexano (A) EtOH: IPA 1:1 (B); caudal: 8 mL/min; isocrático: 90: 10(A: B).

Intermedios y procedimientos generales:

Intermedio A: Formación de 4-acetoxi-3-oxobutanoato de etilo

[0090]



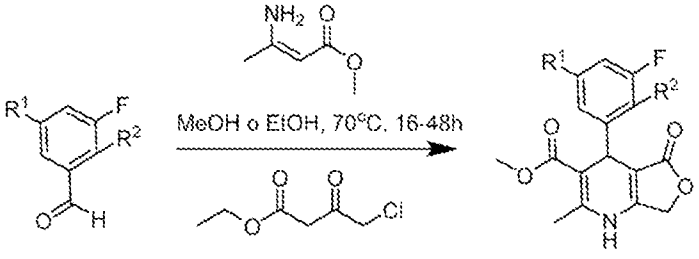
[0091] A una solución de 4-cloro-3-oxobutanoato de etilo (200 g, 1215,1 mmol) en ácido acético (1500 mL), se añadió acetato de potasio (357 g, 3645,4 mmol). La solución resultante se agitó a 90 °C durante 18 h. El disolvente se disolvió en agua (2 L) y se extrajo en acetato de etilo (1 L x 4 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de $NaHCO_3$ (2 L) y se secaron con Na_2SO_4.

[0092] El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 15 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título como un líquido de color marrón claro, 4-acetoxi-3-oxobutanoato de etilo. (152 g).

[0093] ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,78 (s, 2H), 4,20 (c, J = 14,1, 7,2 Hz, 2H), 3,49 (s, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,28 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Procedimiento general I: Formación de compuestos de tipo 2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato

[0094]

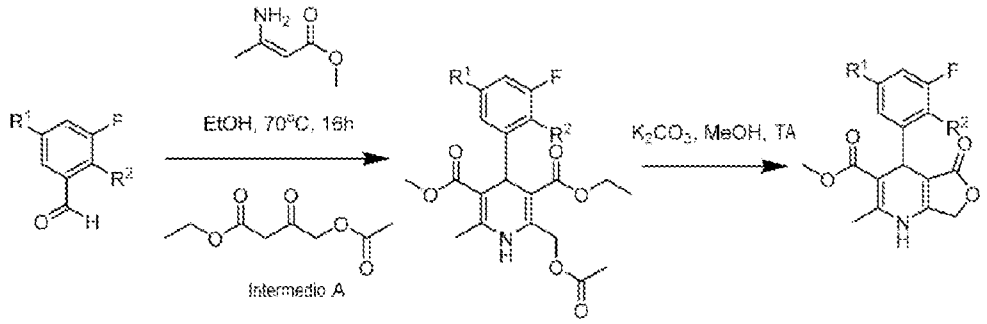


[0095] A una solución de aldehído (1 eq.) y (Z)-3-aminobut-2-enoato de metilo (1 eq.) en EtOH o MeOH (0,3 M), se añadió 4-cloro-3-oxobutanoato de etilo (1 eq.). La solución resultante se agitó a 80 °C durante 16-48 horas. El

disolvente se eliminó a presión reducida y el producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice.

Procedimiento general II: Formación de compuestos de tipo 2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato

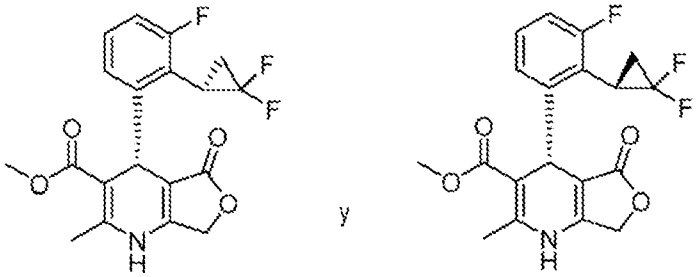
[0096]



[0097] Paso 1: A una solución de aldehído (1 eq.) y (Z)-3-aminobut-2-enoato de metilo (1 eq.) en EtOH o MeOH (0,3 M), se añadió 4-acetoxi-3-oxobutanoato de etilo (Intermedio A, 1 eq.). La solución resultante se agitó a 80 °C durante 14 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y se obtuvo el compuesto crudo que por lo general se llevó al paso dos sin purificación adicional.

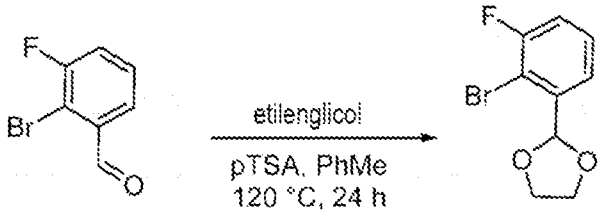
[0098] Paso 2: A un intermedio crudo del paso 2 en metanol (0,3 M), se añadió carbonato de potasio (3 eq). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida, se añadió a agua (500 mL), se extrajo en acetato de etilo y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice proporcionó el producto **Ejemplo 1. (S)-4-(2-((R o S)-2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo y Ejemplo 2. (S)-4-(2-((S o R)-2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo**

[0099]



Paso 1: 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano

[0100]

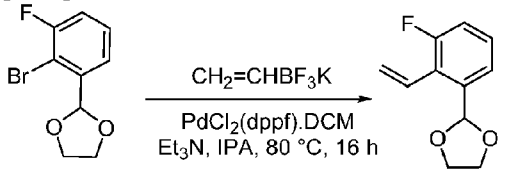


[0101] A una solución de 2-bromo-3-fluorobenzaldehído (60 g, 295,56 mmol) y etilenglicol (65,4 mL, 1182,2 mmol), que se pueden adquirir de proveedores comerciales, en tolueno (600 mL), se añadió ácido p-toluenosulfónico monohidratado (28,11 g, 147,78 mmol). La solución resultante se agitó a 120 °C durante 24 h utilizando un aparato de dean-stark. El disolvente se disolvió en agua (2 L) y se extrajo en acetato de etilo (3 L). Esto se lavó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (1 L) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (60 g) como un líquido incoloro.

[0102] ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,42- 7,37 (m, 1H), 7,34- 7,29 (m, 1H), 7,16- 7,10 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 4,19-4,09 (m, 4H).

Paso 2: 2-(3-fluoro-2-vinilfenil)-1,3-dioxolano

[0103]

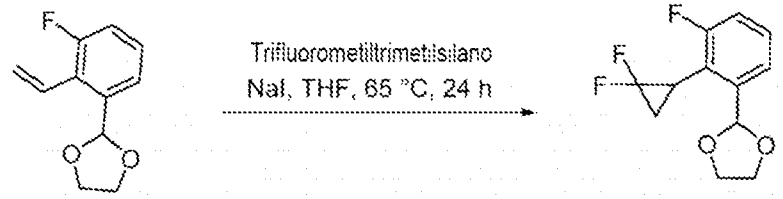


[0104] A una solución de 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 1, 15 g, 60,72 mmol) y viniltrifluoroborato de potasio (16,26 g, 121,45 mmol) en alcohol isopropílico (200 mL), se añadió trietilamina (25,5 mL, 182,16 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II). DCM (4,95 g, 6,07 mmol). La solución resultante se desgasificó con argón gaseoso durante 10 min y se agitó a 80 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo (100 mL). El filtrado se añadió a agua (1 L) y se extrajo en acetato de etilo (2 L) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(3-fluoro-2-vinilfenil)-1,3-dioxolano (7,5 g) como un líquido incoloro.

[0105] ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,45-7,41 (m, 1H), 7,27-7,20 (m, 1H), 7,10-7,03 (m, 1H), 6,82 (dd, J = 17,7, 11,7 Hz, 1H), 5,82-5,78 (m, 1H), 5,66-5,60 (m, 1H), 5,95 (s, 1H), 4,18 - 4,02 (m, 4H).

Paso 3: 2-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano

[0106]

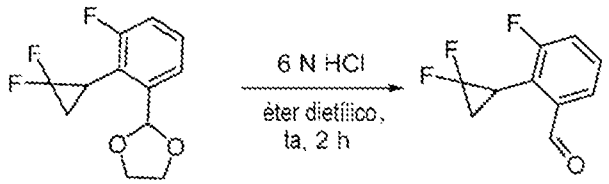


[0107] A una solución de 2-(3-fluoro-2-vinilfenil)-1,3-dioxolano (del paso 2, 6,5 g, 33,47 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (50 mL, 334,7 mmol) en tetrahidrofurano (120 mL), se añadió yoduro de sodio (2,5 g, 16,73 mmol). La solución resultante se agitó a 65 °C durante 24 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se disolvió en DCM (100 mL). Esto se lavó con agua (50 mL) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el compuesto de título 2-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (8 g) como líquido incoloro.

[0108] ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,42 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,34-7,28 (m, 1H), 7,16-7,03 (m, 1H), 6,06 (s, 1H), 4,20-4,01 (m, 4H), 2,77-2,66 (m, 1H), 2,02-1,72 (m, 2H).

Paso 4: 2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorobenzaldehído

[0109]

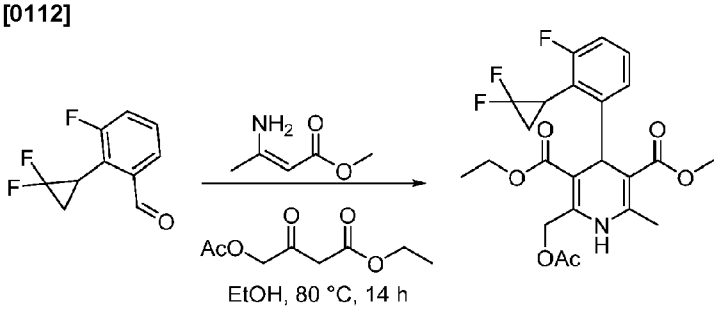


[0110] A una solución de 2-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 3, 8 g, 32,76 mmol) en éter dietílico (80 mL), se añadió HCl 6 N (10 mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Esto se lavó con agua (50 mL) y una solución saturada de $NaHCO_3$ (100 mL) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 5 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorobenzaldehído (3,8 g) como un líquido incoloro.

[0111] ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,28 (s, 1H), 7,70 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,50-7,43 (m, 1H), 7,36-7,26 (m, 1H), 2,92- 2,81 (m, 1H), 2,16-2,06 (m, 1H), 1,67-1,53 (m, 1H).

Paso 5: 2-(acetoximetil)-4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

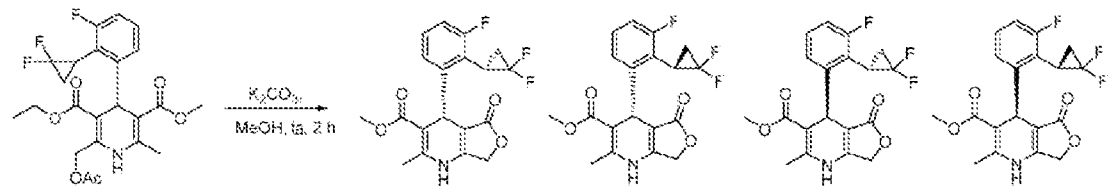
[0112]



[0113] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 4, 3,8 g, 18,93 mmol) para obtener (9,3 g, crudo).
LCMS t_R = 1,716 min; MS m/z 468,3 [M+H]+; [Método 7]

Paso 6: 4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0114]



[0115] Se sintetizó 4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el paso 2 del método general II (utilizando el intermedio del paso 5, 9,3 g, 19,89 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 50 %) de acetato de etilo en éter de petróleo y proporcionó el compuesto del título 4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (2,3 g) como un sólido blanquecino.
LCMS t_R = 1,489 min; MS m/z 380,1 [M+H]+; [Método 7]

[0116] La muestra racémica se separó en sus cuatro estereoisómeros mediante SFC quiral (fase móvil: 30 % de IPA/CO_2, 80 g/min; columna: (SS) Whelk-O1 21 × 250 mm; instrumento: Thar80_SN4739).

Ejemplo 1

[0117] 290,6 mg del segundo estereoisómero eluido como un sólido blanco (73,6 %)
SFC t_R = 2,94 min; ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,12 min; MS m/z 380,3 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,89 (s, 1H), 7,29 (td, J = 7,9, 5,6 Hz, 1H), 7,11 - 6,91 (m, 2H), 5,20 (s, 1H), 4,88 (c, J = 16,3 Hz, 2H), 3,49 (s, 3H), 2,85 (td, J = 12,5, 8,5 Hz, 1H), 2,60 (dtd, J = 11,9, 7,9, 3,5 Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,16 (tq, J = 12,9, 7,3, 6,7 Hz, 1H).

Ejemplo 2

[0118] 261,0 mg del primer estereoisómero eluido como un sólido blanco (68,9 %)
SFC t_R = 2,86 min; ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,08 min; MS m/z 380,2 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,86 (s, 1H), 7,31 (td, J = 8,0, 5,7 Hz, 1H), 7,05 - 6,97 (m, 2H), 5,23 (s, 1H), 4,78 (s, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,15 (td, J = 12,6, 8,5 Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,23 (tt, J = 12,3, 6,7 Hz, 1H), 1,93 (dtd, J = 11,0, 8,4, 7,7, 4,7 Hz, 1H).

Ejemplo 1b

[0119] 275,0 mg del tercer estereoisómero eluido como un sólido blanco (72,2 %)
SFC t_R = 3,16 min; ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,08 min; MS m/z 380,1 [M+H]+; [Método 4]

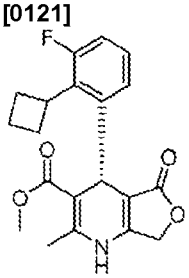
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,89 (s, 1H), 7,31 (td, J = 7,9, 5,6 Hz, 1H), 7,01 (dd, J = 9,7, 8,2 Hz, 2H), 5,23 (s, 1H), 4,77 (s, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,15 (td, J = 12,7, 8,7 Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,30 - 2,15 (m, 1H), 1,94 (dtd, J = 14,1, 8,0, 3,3 Hz, 1H).

Ejemplo 2b

[0120] 366,0 mg del cuarto estereoisómero eluido como un sólido blanco (93,0 %)
SFC t_R = 3,39 min; ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,07 min; MS m/z 380,1 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 10,01 (s, 1H), 7,29 (td, J = 7,9, 5,6 Hz, 1H), 7,10 - 6,92 (m, 2H), 5,19 (s, 1H), 4,87 (c, J = 16,2 Hz, 2H), 3,48 (s, 3H), 2,85 (td, J = 12,5, 8,5 Hz, 1H), 2,61 (dtd, J = 11,8, 8,0, 3,4 Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,15 (tt, J = 12,1, 7,0 Hz, 1H).

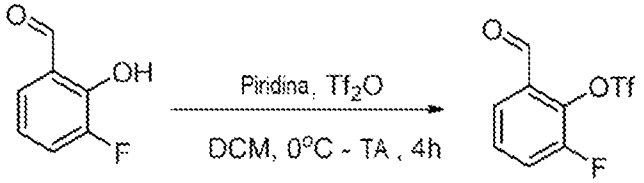
Ejemplo 3. (S)-4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro [3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0121]



Paso 1: trifluorometanosulfonato de 2-fluoro-6-formilfenilo

[0122]

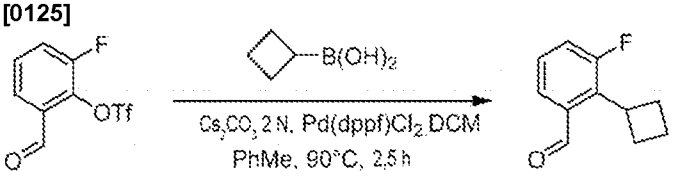


[0123] A una solución de 3-fluoro-2-hidroxibenzaldehído (6 g, 42,82 mmol) y piridina (10,35 mL, 128,47 mmol) en diclorometano (35 mL) a 0 °C, se añadió anhídrido tríflico (8,45 mL, 51,38 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se añadió a agua (1 L) y se extrajo en acetato de etilo (1 L), el EtOAc se lavó con una solución saturada de NH_4Cl (50 mL) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 20 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título trifluorometanosulfonato de 2-fluoro-6-formilfenilo (6 g) como un líquido incoloro.

[0124] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,22 (s, 1H), 7,80- 7,76 (m, 1H), 7,58- 7,53 (m, 2H).

Paso 2: 2-ciclobutil-3-fluorobenzaldehído

[0125]

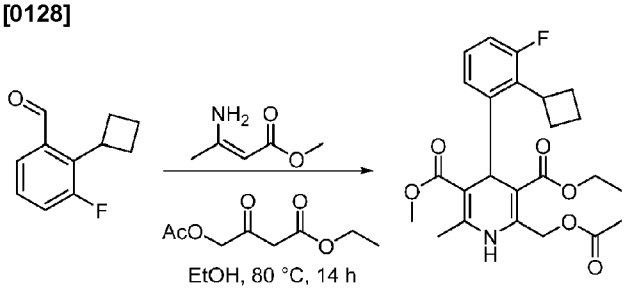


[0126] A una solución de trifluorometanosulfonato de 2-fluoro-6-formilfenilo (del paso 1, 3 g, 11,03 mmol) y carbonato de cesio 2 N (8,82 mL, 17,64 mmol) en tolueno (35 mL), se añadió ácido ciclobutilborónico (1,32 g, 13,24 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II).DCM (900 mg, 1,103 mmol). La solución resultante se desgasificó con argón gaseoso durante 10 min y se agitó a 90 °C durante 2,5 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo (100 mL). El filtrado se disolvió en agua (1 L), se extrajo en acetato de etilo (2 L) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 5 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-ciclobutil-3-fluorobenzaldehído (200 mg) como un líquido incoloro.

[0127] ^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 10,26 (s, 1H), 7,57 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,26- 7,17 (m, 2H), 4,27- 4,22 (m, 1H), 2,46- 2,42 (m, 4H), 2,14- 2,05 (m, 1H), 1,93- 1,90 (m, 1H).

Paso 3: 2-(acetoximetil)-4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

[0128]

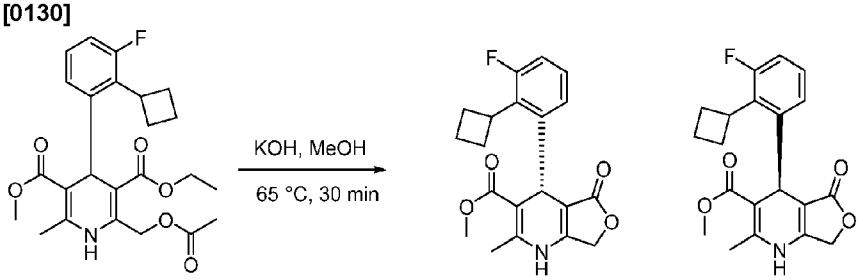


[0129] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 2, 200 mg, 1,12 mmol) para obtener (80 mg, crudo).

LCMS t_R = 1,94 min; MS m/z 446,4 [M+H]+; [Método 8]

Paso 4: 4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin- 3-carboxilato de metilo

[0130]



[0131] A una solución agitada de 2-(acetoximetil)-4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo (utilizando el intermedio del paso 3, 80 mg, 19,89 mmol) en metanol (5 mL), se añadió hidróxido de potasio (1,2 g, 21,57 mmol). La solución resultante se agitó a 65 °C durante 30 min. Se añadió agua a la mezcla de reacción y precipitó un sólido y se filtró. El sólido se lavó con éter dietílico y el sólido se recolectó y se secó a presión reducida para proporcionar el compuesto del título crudo. El producto crudo se purificó utilizando HPLC preparativa [Método 5], que proporcionó el compuesto del título 4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (34 mg) como un sólido blanquecino.

LCMS t_R = 1,598 min; MS m/z 358,2 [M+H]+; [Método 7]

La mezcla racémica se separó en dos enantiómeros utilizando HPLC preparativa quiral [Método 1]

Ejemplo 3

[0132] 10 mg del segundo enantiómero eluido como un sólido blanco, 29 % de rendimiento.

HPLC quiral t_R = 6,306 min (fase móvil: n-hexano (A) IPA: MeOH, 1:1 (B); 1 mL/min; isocrático: 70 : 30 A: B); columna: Lux, 5 micras, Cellulose-4 (250 X 4,6mm , 5 micras).

LCMS t_R = 1,6 min; MS m/z 358,2 [M+H]+; [Método 7]

^{1}H RMN (400 MHz, MeOH-d4) δ 7,01 - 7,04 (m, 1H), 6,94 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 6,84 - 6,79 (m, 1H), 5,18 (s, 1H), 4,76 (s, 2H), 4,32 - 4,23 (m, 1H), 3,46 (s, 3H), 2,74 - 2,50 (m, 2H), 2,49 - 2,29 (m, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,18 - 1,90 (m, 2H).

Ejemplo 3b

[0133] 10 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco, 29 % de rendimiento.

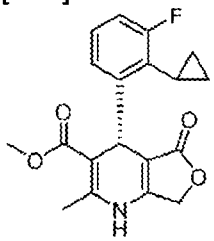
HPLC quiral t_R = 5,796 min (fase móvil: n-hexano (A) IPA: MeOH, 1:1 (B); 1 mL/min; isocrático: 70 : 30 A: B); columna: Lux, 5 micras, Cellulose-4 (250 X 4,6mm , 5 micras).

LCMS t_R = 1,602 min; MS m/z 358,2 [M+H]+; [Método 7]

^{1}H RMN (400 MHz, MeOH-d4) δ 7,01 - 7,04 (m, 1H), 6,94 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 6,84 - 6,79 (m, 1H), 5,18 (s, 1H), 4,76 (s, 2H), 4,32 - 4,23 (m, 1H), 3,46 (s, 3H), 2,74 - 2,50 (m, 2H), 2,49 - 2,29 (m, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,18 - 1,90 (m, 2H).

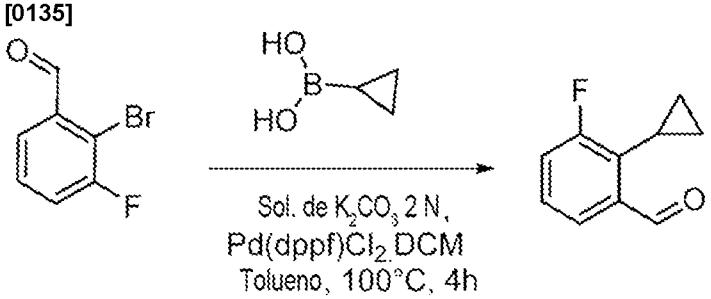
Ejemplo 4. (S)-4-(2-ciclopropil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0134]



Paso 1: 2-ciclopropil-3-fluorobenzaldehído

[0135]

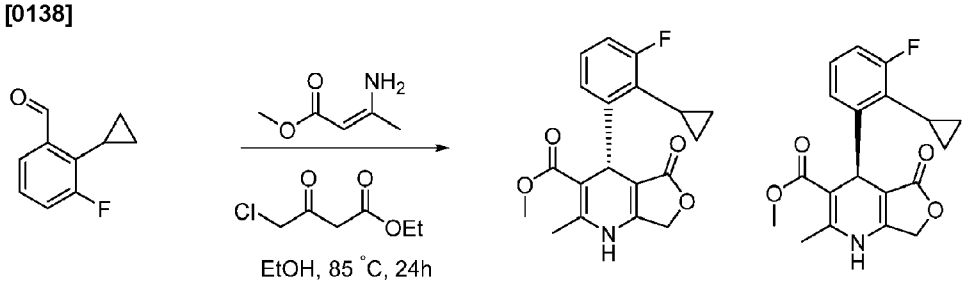


[0136] A una solución de 2-bromo-3-fluorobenzaldehído (15 g, 73,88 mmol) y ácido ciclopropilborónico (7,61 g, 88,66 mmol), que se pueden adquirir de proveedores comerciales, en tolueno (160 mL), se añadió K_2CO_3 2 N (25,5 mL, 182,16 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II). DCM (6,03 g, 7,38 mmol). La solución resultante se desgasificó con argón gaseoso durante 10 min y se agitó a 100 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo (200 mL). El filtrado se añadió a agua (500 mL), el producto se extrajo en acetato de etilo (2 L) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 1 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-ciclopropil-3-fluorobenzaldehído (11,2 g) como un líquido incoloro.

[0137] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,70 (s, 1H), 7,63 (dd, J = 1,2, 7,8 Hz, 1H), 7,35 - 7,15 (m, 2H), 2,14 - 2,02 (m, 1H), 1,19 - 1,09 (m, 2H), 0,85 - 0,75 (m, 2H).

Paso 2: 4-(2-ciclopropil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0138]



[0139] Se sintetizó 4-(2-ciclopropil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el método general I (utilizando el intermedio del paso 1, 24,5 g, 149,2 mmol). El producto crudo se purificó utilizando cromatografía en columna de sílice para proporcionar el compuesto del título 4-(2-ciclopropil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (5,15 g) como un sólido blanquecino. LCMS t_R = 1,598 min; MS m/z 358,2 [M+H]+; [Método 7]

[0140] La muestra racémica se separó en sus enantiómeros mediante SFC quiral (fase móvil: 10 % de MeOH/CO_2, 70 mL/min; columna: OJ-H 2 × 25 cm).

Ejemplo 4

[0141] 2,27 g del segundo enantiómero eluido como un sólido blanquecino (84 %).

SFC t_R = 2,02 min (Chiralcel OJ-H 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de MeOH/CO_2).

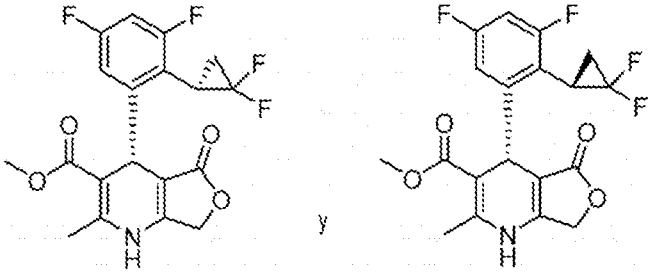
HRMS t_R = 1,16 min; MS m/z 344,1334 [M+H]+; [Método 13]
^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d4) δ 7,11 (td, J = 7,9, 5,2 Hz, 1H), 6,98 (dd, J = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 6,85 - 6,69 (m, 1H), 5,57 (s, 1H), 4,75 (s, 2H), 3,52 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,13 (tt, J = 8,7, 5,8 Hz, 1H), 1,26 - 1,14 (m, 1H), 1,04 - 0,87 (m, 2H), 0,87 - 0,69 (m, 1H).

Ejemplo 4b

[0142] 2,38 g de primer enantiómero eluido como un sólido blanquecino (79 %).
SFC t_R = 1,96 min (Chiralcel OJ-H 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de MeOH/CO_2).
HRMS t_R = 1,16; MS m/z 344,1329 [M+H]+; [Método 13]
^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d4) δ 7,11 (td, J = 8,0, 5,3 Hz, 1H), 6,98 (dd, J = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 6,78 (ddd, J = 11,3, 8,3, 1,8 Hz, 1H), 5,57 (s, 1H), 4,78 (s, 2H), 3,52 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,14 (tt, J = 8,8, 5,8 Hz, 1H), 1,27 - 1,17 (m, 1H), 1,01 - 0,90 (m, 2H), 0,82 - 0,73 (m, 1H).

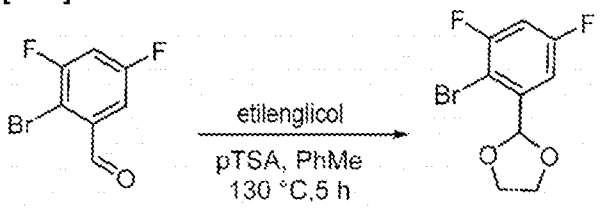
Ejemplo 5. (S)-4-(2-((R o S)-2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo y Ejemplo 6. (S)-4-(2-((R o S)-2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0143]



Paso 1: 2-(2-bromo-3,5-difluorofenil)-1,3-dioxolano

[0144]

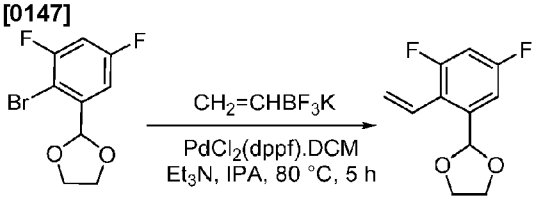


[0145] Una solución de 2-bromo-3,5-difluorobenzaldehído (10 g, 45,24 mmol) y etilenglicol (8,45 g, 135,7 mmol) (600 mL), ácido p-toluenosulfónico monohidratado (6,88 g, 36,18 mmol) en tolueno (100 mL) se agitó a 130 °C durante 5 h utilizando un aparato de dean-stark. El disolvente se añadió en una solución saturada de $NaHCO_3$ (100 mL), la capa orgánica se separó, la capa acuosa se extrajo con EtOAc dos veces y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 10 %) de acetato de etilo en hexano proporcionó el compuesto del título 2-(2-bromo-3,5-difluorofenil)-1,3-dioxolano (11,5 g) como un líquido incoloro.

[0146] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,201- 7,157 (m, 1H), 6,49- 6,87 (m, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,17-4,04 (m, 4H).

Paso 2: 2-(3,5-difluoro-2-vinilfenil)-1,3-dioxolano

[0147]



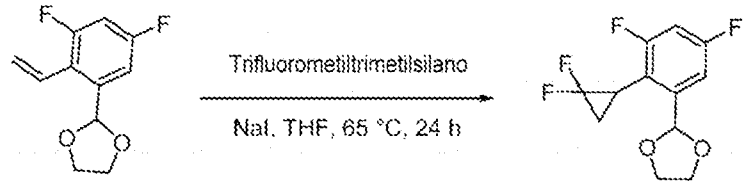
[0148] Una solución de 2-(2-bromo-3,5-difluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 1, 5 g, 18,94 mmol) y viniltrifluoroborato de potasio (5,8 g, 37,89 mmol), trietilamina (7,91 mL, 56,82 mmol) en alcohol isopropílico (50 mL) se desgasificó durante 10 min utilizando argón gaseoso. Se añadió [1,1'-

bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II). DCM (1,55 g, 1,89 mmol) y la solución resultante se desgasificó nuevamente con argón gaseoso durante 10 min y se agitó a 80 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo (100 mL). El filtrado se añadió a agua (1 L) y se extrajo en acetato de etilo (2 L) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(3,5-difluoro-2-vinilfenil)-1,3-dioxolano (3,45 g) como un líquido incoloro.

[0149] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,20 - 7,16 (m, 1H), 6,94 - 6,83 (m, 1H), 6,82 (dd, J = 17,7, 11,7 Hz, 1H), 5,60 (dd, J = 1,2, 11,7 Hz, 1H), 5,66 - 5,60 (m, 1H), 5,95 (s, 1H), 4,18 - 4,02 (m, 4H).

Paso 3: 2-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-1,3-dioxolano

[0150]

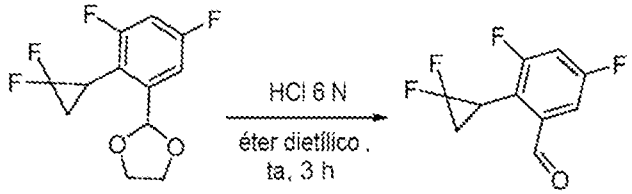


[0151] A una solución de 2-(3,5-difluoro-2-vinilfenil)-1,3-dioxolano (del paso 2, 2,4 g, 11,31 mmol) y trifluorometiltrimetilsilano (16,1 g, 113,1 mmol) en tetrahidrofurano (15 mL), se añadió yoduro de sodio (850 mg, 5,65 mmol). La solución resultante se agitó a 65 °C durante 24 h. Se enfrió de nuevo hasta temperatura ambiente, se añadió trifluorometiltrimetilsilano (16,1 g, 113,1 mmol) y yoduro de sodio (850 mg, 5,65 mmol) a la reacción y la solución resultante se agitó a 65 °C durante 24 h. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y agua, la capa orgánica se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el compuesto del título 2-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-1,3-dioxolano (1,5 g) como un líquido marrón.

[0152] ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,26 - 7,14 (m, 1H), 6,90 - 6,77 (m, 1H), 6,04 (s, 1H), 4,17 - 4,03 (m, 4H), 2,77 - 2,66 (m, 1H), 1,98 - 1,70 (m, 2H).

Paso 4: 2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorobenzaldehído

[0153]

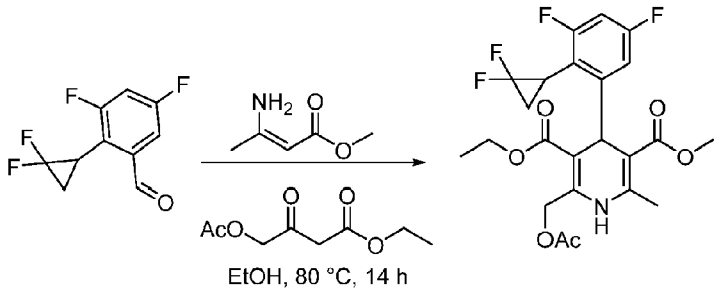


[0154] A una solución de 2-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 3, 1,5 g, 5,72 mmol) en éter dietílico (15 mL), se añadió HCl 6 N (3 mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Esto se lavó con agua (50 mL) y una solución saturada de $NaHCO_3$ (100 mL) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 5 %) de acetato de etilo en hexano proporcionó el compuesto del título 2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorobenzaldehído (1,25 g) como un líquido incoloro.

[0155] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,22 (s, 1H), 7,50-7,39 (m, 1H), 7,20-7,05 (m, 1H), 2,80- 2,60 (m, 1H), 2,18-1,89 (m, 1H), 1,65-1,53 (m, 1H).

Paso 5: 2-(Acetoximetil)-4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

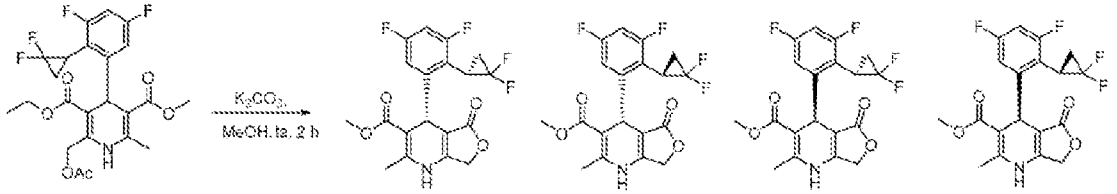
[0156]



[0157] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 4, 1,25 g, 5,73 mmol) para obtener (1,45 g, crudo).
LCMS t_R = 1,775 min; MS m/z 486,3 [M+H]+; [Método 12]

Paso 6: 4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0158]



[0159] Se sintetizó 4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el paso 2 del método general II (utilizando el intermedio del paso 5, 945 mg, 1,948 mmol). La purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 50 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (520 mg) como un sólido blanquecino.
LCMS t_R = 1,553 min; MS m/z 398,2 [M+H]+; [Método 12]
^{1}H RMN (300 MHz, CD_3CN) δ 7,80 (s, 1H), 6,949-6,774 (m, 2H), 5,31 (s, 1H), 4,81, 4,79 y 4,70 (3 s, 2H), 3,54 y 3,49 (2 s, 3H), 2,79 - 2,66 (m, 1H), 2,39 y 2,30 (2 s, 3H), 2,14 - 2,05 (m, 2H), (múltiples picos que se deben a la presencia de una mezcla diastereomérica).

[0160] La muestra racémica se separó en sus cuatro estereoisómeros mediante SFC quiral (fase móvil: 25% de IPA/CO_2, 80 g/min; columna: (SS) Whelk-O1 21 × 250 mm; instrumento: Thar80_SN4740).

Ejemplo 5

[0161] 120,2 mg del segundo estereoisómero eluido como un sólido blanco (93,0%)
SFC t_R = 2,70 min ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,19 min; MS m/z 398,2 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,94 (s, 1H), 7,07 (ddd, J = 11,1, 8,8, 2,8 Hz, 1H), 6,96 - 6,68 (m, 1H), 5,23 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 5,08 - 4,63 (m, 2H), 3,50 (s, 3H), 2,81 (td, J = 11,9, 7,8 Hz, 1H), 2,59 (ddt, J = 12,7, 8,3, 4,0 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,18 (tt, J = 12,7, 7,0 Hz, 1H).

Ejemplo 6

[0162] 61,8 mg del primer estereoisómero eluido como un sólido blanco (47,8%)
SFC t_R = 2,64 min ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,20 min; MS m/z 398,3 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,92 (s, 1H), 7,07 (ddd, J = 11,2, 8,8, 2,7 Hz, 1H), 6,89 - 6,66 (m, 1H), 5,25 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 4,86 - 4,72 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,15 - 3,03 (m, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,26 (tq, J = 12,2, 7,1, 6,3 Hz, 1H), 1,92 (qd, J = 8,8, 8,2, 4,9 Hz, 1H).

Ejemplo 5b

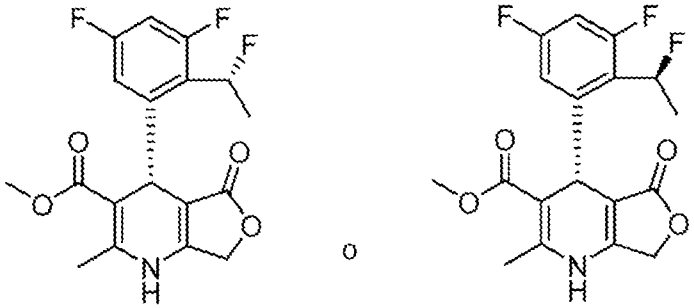
[0163] 76,7 mg del tercer estereoisómero eluido como un sólido blanco (59,4%)
SFC t_R = 2,86 min ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,19 min; MS m/z 398,1 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,92 (s, 1H), 7,07 (ddd, J = 10,1, 8,6, 2,7 Hz, 1H), 6,92 - 6,64 (m, 1H), 5,25 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 4,80 (d, J = 3,5 Hz, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,16 - 3,01 (m, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,25 (tt, J = 12,2, 6,6 Hz, 1H), 1,92 (qd, J = 9,1, 8,0, 5,0 Hz, 1H).

Ejemplo 6b

[0164] 133,6 mg del cuarto estereoisómero eluido como un sólido blanco (98,0 %)
SFC t_R = 3,08 min ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de IPA/CO_2).
LCMS t_R = 2,19 min; MS m/z 398,2 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,92 (s, 1H), 7,07 (ddd, J = 11,2, 8,8, 2,7 Hz, 1H), 6,89 - 6,66 (m, 1H), 5,25 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 4,86 - 4,72 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,15 - 3,03 (m, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,26 (tq, J = 12,2, 7,1, 6,3 Hz, 1H), 1,92 (qd, J = 8,8, 8,2, 4,9 Hz, 1H).

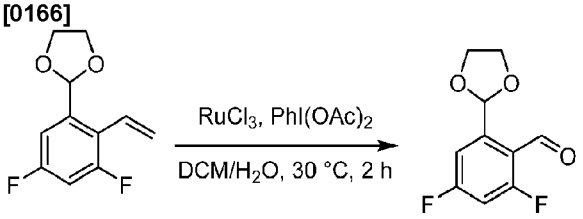
Ejemplo 7. (S)-4-(3,5-difluoro-2-((S o R)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0165]



Paso 1: 2-(1,3-dioxolan-2-il)-4,6-difluorobenzaldehído

[0166]

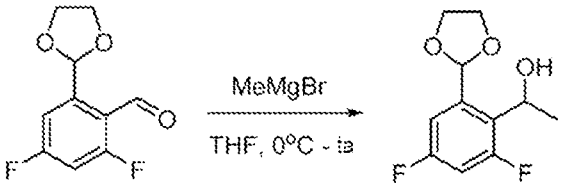


[0167] A una solución de 2-(3,5-difluoro-2-vinilfenil)-1,3-dioxolano (paso 2 del ejemplo 5, 5 g, 23,58 mmol) y cloruro de rutenioXH_2O (490 mg, 2,35 mmol) en diclorometano (50 mL) y agua (10 mL), se añadió diacetoxiyodobenceno (11,4 g, 35,37 mmol). La solución resultante se agitó a 30 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo (200 mL). El filtrado se añadió a agua (200 mL), se extrajo en acetato de etilo (500 mL) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(1,3-dioxolan-2-il)-4,6-fluorobenzaldehído (3 g) como un líquido incoloro.

[0168] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,41 (s, 1H), 7,35 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 6,95 - 6,85 (m, 1H), 6,53 (s, 1H), 4,08 (s, 4H).

Paso 2: 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-4,6-difluorofenil)etan-1-ol

[0169]

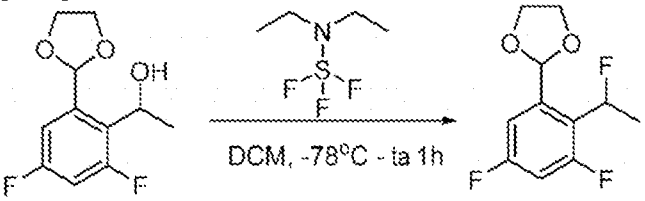


[0170] A una solución de 2-(1,3-dioxolan-2-il)-4,6-difluorobenzaldehído (del paso 1, 1,0 g, 4,67 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (10 mL) a 0 °C, se añadió bromuro de metilmagnesio (2,33 mL, 3 M en éter, 4,67 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se desactivó con cloruro de amonio saturado (10 mL) a 0 °C y se diluyó con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida, lo que proporcionó el compuesto del título 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-4,6-difluorofenil)etan-1-ol (950 mg) como un líquido incoloro. Se prosiguió con el compuesto crudo en el siguiente paso sin purificación adicional.

[0171] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,17 (dd, J = 2,4, 6,3 Hz, 1H), 6,89 - 6,72 (m, 1H), 6,17 (s, 1H), 5,31 (dd, J = 6,9, 13,5 Hz, 1H), 4,15 - 4,02 (m, 4H), 2,64 - 2,59 (m. 1H), 1,58 (d, J = 9,0 Hz, 3H).

Paso 3: 2-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano

[0172]

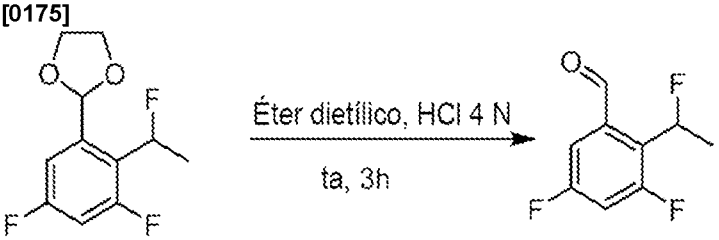


[0173] A una solución de 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-4,6-difluorofenil)etan-1-ol (del paso 2, 950 mg, 4,13 mmol) en diclorometano (10 mL) a -78 °C, se añadió trifluoruro de dietilaminoazufre (1,0 g, 6,13 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se desactivó con cloruro de amonio saturado (10 mL) a 0 °C y se diluyó con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y proporcionó el compuesto del título 2-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano (600 mg) como un líquido espeso de color amarillo. Se prosiguió con el compuesto crudo en el siguiente paso sin purificación adicional.

[0174] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,20 (dd, J = 2,4, 6,3 Hz, 1H), 6,87 - 6,75 (m, 1H), 6,15 - 5,98 (m, 1H), 6,11 (s, 1H), 4,15 - 4,02 (m, 4H), 1,70 (dd, J = 6,6, 22,8 Hz, 3H).

Paso 4: 3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)benzaldehído

[0175]

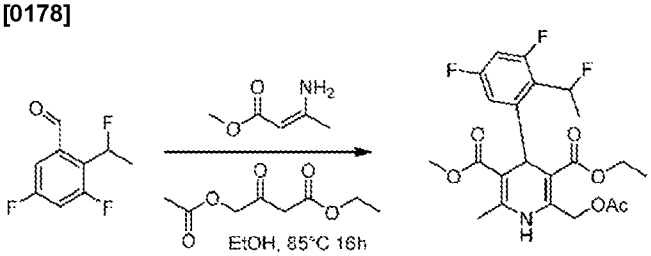


[0176] A una solución de 2-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano (del paso 3, 600 mg, 2,58 mmol) y en éter dietílico (10 mL), se añadió HCl 4 N (2 mL) a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Esto se lavó con agua (50 mL) y una solución saturada de $NaHCO_3$ (100 mL), salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el compuesto del título 3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)benzaldehído (200 mg) como un líquido incoloro. (Nota: el aldehído obtenido es de naturaleza volátil)

[0177] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,44 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 7,10 - 6,98 (m, 1H), 6,43 - 6,19 (m, 1H), 1,78 (dd, J = 7,2, 23,1 Hz, 3H).

Paso 5: 2-(acetoximetil)-4-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

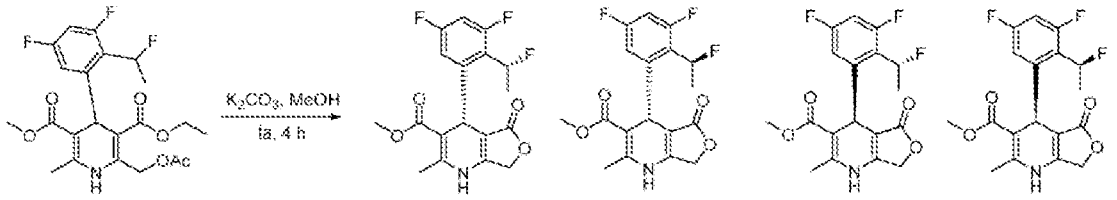
[0178]



[0179] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 4, 200 mg, 1,06 mmol) para obtener 2-(acetoximetil)-4-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo (800 mg, crudo).
LCMS t_R = 1,738 min; MS m/z 456,3 [M+H]+; [Método 7]

Paso 6: 4-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0180]



[0181] Se sintetizó 4-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el paso 2 del método general II (utilizando el intermedio crudo del paso 5, 800 mg, 1,75 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 80 %) de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título 4-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (100 mg) como un sólido blanquecino.

[0182] La mezcla diastereomérica se separó en los isómeros utilizando HPLC preparativa [Método 4].

[0183] 39 mg del primer diastereómero eluido como un sólido blanco y 35 mg del segundo diastereómero eluido como un sólido blanco. Pico 1: 39 mg y Pico 2: 35 mg, que se separaron adicionalmente en los enantiómeros individuales utilizando HPLC preparativa quiral [Método 1].

Ejemplo 7

[0184] 9 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco
HPLC quiral t_R = 5,77 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70 : 30 (A: B); columna: Regis,(S,S) Whelk-01-(250 X 4,6 mm, 5 micras).
LCMS t_R = 1,492 min; MS m/z 366,0 [M-H]-; [Método 12]
^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 8,03 (s, 1H), 6,71 - 6,62 (m, 2H), 6,59 - 6,39 (m, 1H), 5,06 (s, 1H), 4,66 (d, J = 1,7 Hz, 2H), 3,55 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 1,90 - 1,67 (m, 3H).

Ejemplo 7b

[0185] 9 mg del segundo enantiómero como un sólido blanco.
HPLC quiral t_R = 7,806 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70 : 30 (A: B); columna: Regis,(S,S) Whelk-01-(250 X 4,6 mm, 5 micras).
LCMS t_R = 1,487 min; MS m/z 366,0 [M-H]-; [Método 12]
^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 6,78 - 6,63 (m, 2H), 6,43 - 6,19 (m, 2H), 5,11 (s, 1H), 4,78 - 4,71 (m, 2H), 3,59 (s, 3H), 2,45 (d, J = 0,5 Hz, 3H), 1,92 (ddd, J = 23,2, 6,7, 1,5 Hz, 3H).

Ejemplo 7c

[0186] 7 mg del tercer enantiómero eluido como un sólido blanco

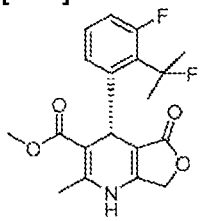
HPLC quiral t_R = 10,16 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70 : 30 (A: B); columna: Regis,(S,S) Whelk-01-(250 X 4,6 mm, 5 micras).
LCMS t_R = 1,493 min; MS m/z 366,0 [M-H]-; [Método 12]
^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 6,73 - 6,61 (m, 3H), 6,40 - 6,20 (m, 1H), 5,18 - 5,06 (m, 1H), 4,80 - 4,67 (m, 2H), 3,58 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,91 (ddd, J = 23,2, 6,6, 1,5 Hz, 3H).

Ejemplo 7d

[0187] 7 mg del cuarto enantiómero eluido como un sólido blanco
HPLC quiral t_R = 11,83 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70 : 30 (A: B); columna: Regis,(S,S) Whelk-01-(250 X 4,6 mm, 5 micras).
LCMS t_R = 1,510 min; MS m/z 366,0 [M-H]-; [Método 12]
^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,81 (s, 1H), 6,67 (t, J = 9,0, 9,0 Hz, 2H), 6,50 (dq, J = 44,5, 6,7, 6,7, 6,7 Hz, 1H), 5,06 (s, 1H), 4,66 (s, 2H), 3,55 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 1,80 (dd, J = 22,8, 6,6 Hz, 3H).

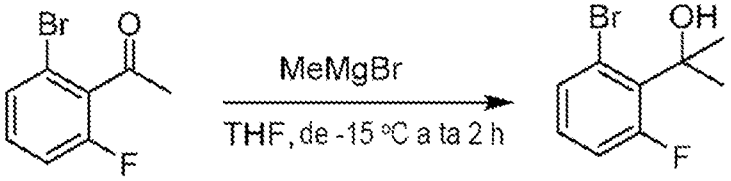
Ejemplo 8. (S)-4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0188]



Paso 1: 2-(2-bromo-6-fluorofenil)propan-2-ol

[0189]

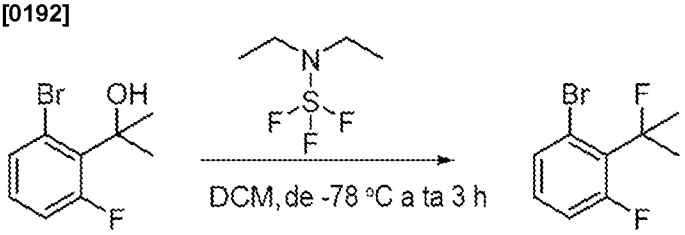


[0190] A una solución de 1-(2-bromo-6-fluorofenil)etan-1-ona (11,0 g, 50,69 mmol), que se puede adquirir de proveedores comerciales, en tetrahidrofurano anhidro (100 mL) a -15 °C, se añadió bromuro de metilmagnesio (33,8 mL, 3 M en éter, 101,3 mmol) gota a gota. Se permitió que la solución resultante se calentara lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h adicional. La mezcla de reacción se desactivó con cloruro de amonio saturado (30 mL) a 0 °C y se diluyó con acetato de etilo (500 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía en sílice con (0 -- 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(2-bromo-6-fluorofenil)propan-2-ol (10 g) como un líquido incoloro.

[0191] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 7,46 - 7,34 (m, 1H), 7,13 - 6,94 (m, 2H), 3,44 (s a, 1H), 1,77 (s, 3H), 1,76 (s, 3H).

Paso 2: 1-bromo-3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)benceno

[0192]

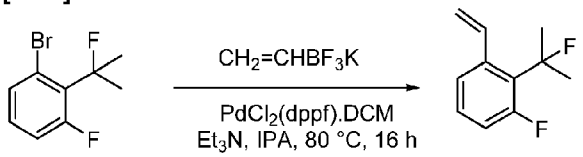


[0193] A una solución de 2-(2-bromo-6-fluorofenil)propan-2-ol (del paso 1, 7,0 g, 30,02 mmol) en diclorometano (10 mL) a -78 °C, se añadió trifluoruro de dietilaminoazufre (8,06 mL, 60,06 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se desactivó con una solución saturada de bicarbonato de amonio (10 mL) a 0 °C y se diluyó con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía en sílice con (0 → 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 1-bromo-3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)benceno (4,0 g) como un líquido incoloro.

[0194] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 7,45 (m, 1H), 7,17 - 6,87 (m, 2H), 1,89 (s, 3H), 1,82 (s, 3H).

Paso 3: 1-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)-3-vinilbenceno

[0195]

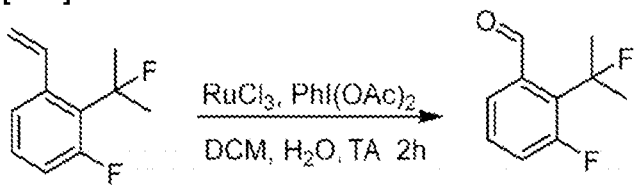


[0196] A una solución de 1-bromo-3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)benceno (del paso 2, 4,0 g, 17,02 mmol) y viniltrifluoroborato de potasio (4,55 g, 34,04 mmol) en alcohol isopropílico (40 mL), se añadió trietilamina (7,0 mL, 51,06 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II).DCM (1,39 g, 1,702 mmol). La solución resultante se desgasificó con argón gaseoso durante 10 min y se agitó a 80 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo (100 mL). El filtrado se añadió a agua (50 mL), se extrajo en acetato de etilo (200 mL), se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 5 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 1-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)-3-vinilbenceno (2,0 g) como un líquido incoloro.

[0197] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 7,44 - 7,30 (m, 1H), 7,25 - 7,10 (m, 2H), 7,03 - 6,76 (m, 1H), 5,45 - 5,16 (m, 2H), 1,84 (s, 3H), 1,76 (s, 3H).

Paso 4: 3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)benzaldehído

[0198]

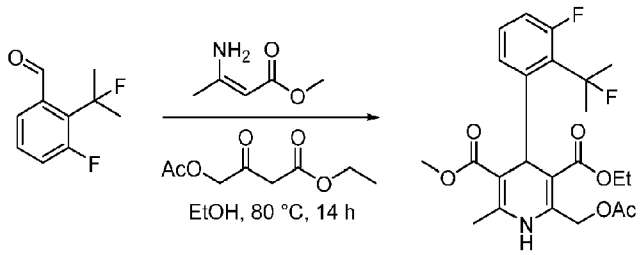


[0199] A una solución de 1-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)-3-vinilbenceno (del paso 3, 2,0 g, 10,97 mmol) y cloruro de rutenioXH_2O (227 mg, 1,097 mmol) en diclorometano (60 mL) y agua (15 mL), se añadió diacetoxiyodobenceno (10,6 g, 32,93 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo (200 mL). El filtrado se añadió a agua (200 mL), se extrajo en acetato de etilo (500 mL), se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 5 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)benzaldehído (800 mg) como un líquido incoloro.

[0200] ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 10,57 (s, 1H), 7,61 - 7,46 (m, 1H), 7,48 - 7,30 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 1,91 (s, 3H), 1,85 (s, 3H).

Paso 5: 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

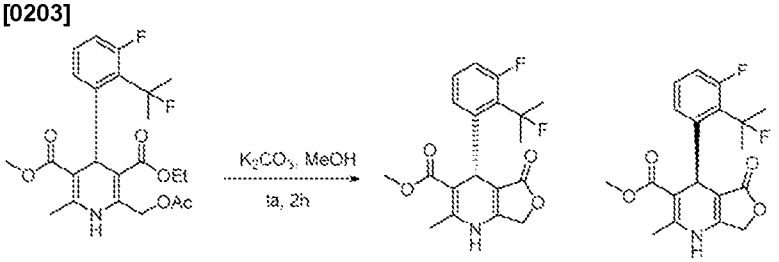
[0201]



[0202] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 4, 600 mg, 3,25 mmol) para obtener (230 mg, crudo).
LCMS t_R = 2,279 min; MS m/z 452,4 [M+H]+; [Método 9]

Paso 6: 4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0203]



[0204] Se sintetizó 4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el paso 2 del método general II (utilizando el intermedio del paso 5, 200 mg, 0,509 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 60 %) de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título 4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (30 mg) como un sólido blanquecino. LCMS t_R = 1,477 min; MS m/z 362,2 [M-H]-; [Método 12]
La muestra racémica se separó en sus enantiómeros mediante SFC quiral (fase móvil: 15% de MeOH/CO_2, 80 mL/min; columna: IC 21 × 250 mm, 5 µm)

Ejemplo 8

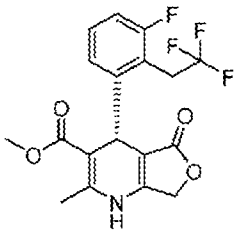
[0205] 6,0 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco (23,8 %).
SFC t_R = 1,98 min (Chiralpak IC 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de MeOH/CO_2)
LCMS t_R = 2,04 min; MS m/z 362,2 [M-H]-; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,67 (s, 1H), 7,25 (td, J = 8,0, 5,6 Hz, 1H), 7,13 (dd, J = 8,0, 1,5 Hz, 1H), 7,05 - 6,89 (m, 1H), 5,83 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 4,75 (s, 2H), 3,43 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,83 (ddd, J = 30,8, 24,0, 1,8 Hz, 6H).

Ejemplo 8b

[0206] 6,0 mg del segundo enantiómero eluido como un sólido blanco (23,8 %).
SFC t_R = 2,35 min (Chiralpak IC 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 → 55 % de MeOH/CO_2)
LCMS t_R = 2,06 min; MS m/z 362,4 [M-H]-; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,67 (s, 1H), 7,25 (td, J = 7,9, 5,5 Hz, 1H), 7,13 (dd, J = 7,8, 1,3 Hz, 1H), 7,04 - 6,86 (m, 1H), 5,83 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 4,75 (s, 2H), 3,43 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,83 (ddd, J = 30,9, 23,9, 1,8 Hz, 6H).

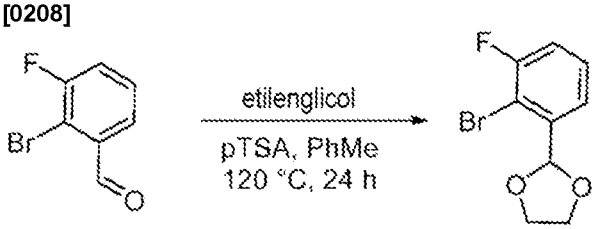
Ejemplo 9. (S)-4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetilo)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0207]



Paso 1: 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano

[0208]

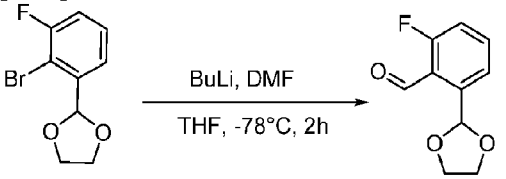


[0209] A una solución de 2-bromo-3-fluorobenzaldehído (60 g, 295,56 mmol) y etilenglicol (65,4 mL, 1182,2 mmol), que se pueden adquirir de proveedores comerciales, en tolueno (600 mL), se añadió ácido p-toluenosulfónico monohidratado (28,11 g, 147,78 mmol). La solución resultante se agitó a 120 °C durante 24 h utilizando un aparato de dean-stark. El disolvente se añadió a agua (2 L) y se extrajo en acetato de etilo (3 L). El EtOAc se lavó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (1 L), salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (60 g) como un líquido incoloro.

[0210] ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,42- 7,37 (m, 1H), 7,34- 7,29 (m, 1H), 7,16- 7,10 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 4,19-4,09 (m, 4H).

Paso 2: 2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorobenzaldehído

[0211]

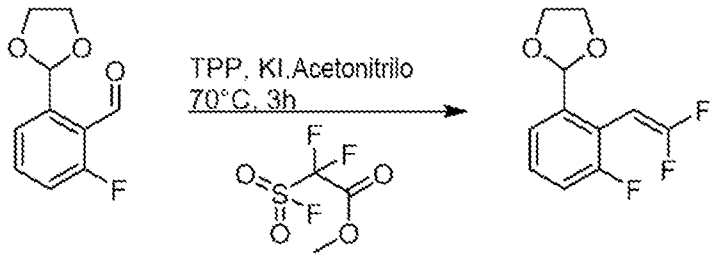


[0212] A una solución de 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 1, 7 g, 28,45 mmol) en THF (70 mL) en atmósfera de nitrógeno a -78 °C, se añadió n-butillitio en una solución de n-hexano (13,66 mL, 2,5 M, 58,5 mmol) gota a gota en 10 min. La mezcla se agitó durante 45 min a -78 °C y a continuación se añadió DMF (2,5 g, 34,15 mmol). La reacción se agitó durante 1,15 h a -78 °C antes de desactivarla con una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y extraerla con acetato de etilo (2 x 100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (50 mL), seguida de salmuera (50 mL) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 50 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorobenzaldehído (5 g) como un líquido incoloro.

[0213] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 10,52 (s, 1H), 7,67 - 7,53 (m, 2H), 7,22 - 7,12 (m, 1H), 6,50 (s, 1H), 4,27 - 3,99 (m, 4H).

Paso 3: 2-(2-(2,2-difluorovinil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano

[0214]

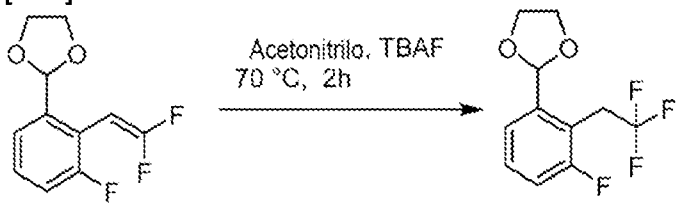


[0215] Una solución de acetonitrilo (65 mL), trifenilfosfina (28,1 g, 107,1 mmol), yoduro de potasio (11,85 g, 71,4 mmol) y 2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorobenzaldehído (del paso 2, 7 g, 35,7 mmol) se agitó durante 30 min a 70 °C en atmósfera de N_2. Se añadió lentamente 2,2-difluoro-2-(fluorosulfonil)acetato de metilo (12 g, 62,4 mmol) durante un período de 10 minutos, (el color se volvió amarillo al realizarse la adición), la mezcla resultante se agitó durante otras 3 h a 70 °C. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con éter dietílico y los sólidos precipitados se filtraron y se lavaron con éter dietílico (100 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 5 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(2-(2,2-difluorovinil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolane (6,9 g) como un líquido de color amarillo claro.

[0216] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 7,39 (dd, J = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 7,31 (m, 1H), 7,11 (m, 1H), 5,87(s, 1H), 5,39 (m, 1H), 4,21 - 3,95 (m, 4H).

Paso 4: 2-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano

[0217]

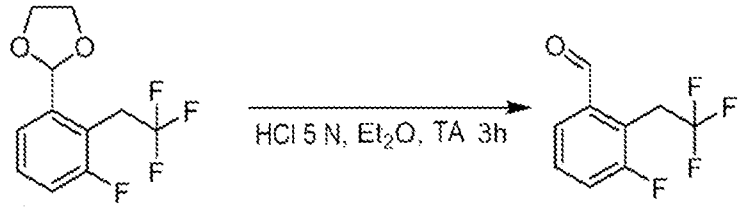


[0218] A una solución de 2-(2-(2,2-difluorovinil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 3, 2,7 g, 11,73 mmol) en MeCN, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio en THF (13,7 g, 1 M, 13,7 mmol). La reacción se calentó hasta 70 °C en un sistema cerrado y la solución resultante se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con éter dietílico, se lavó con agua (50 mL), una solución saturada de $NaHCO_3$ (100 mL), salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano (1,2 g) como un líquido incoloro.

[0219] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 7,49 - 7,42 (m, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,17 - 7,05 (m, 1H), 6,03 (s, 1H), 4,25 - 3,90 (m, 4H), 3,75 (m, 2H).

Paso 5: 3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)benzaldehído

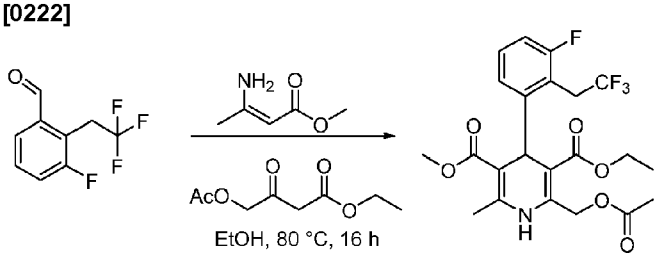
[0220]



[0221] A una solución de 2-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano (del paso 4, 2 g, 8,0 mmol) en el éter dietílico (40 mL), se añadió HCl 6 N (5 mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Esto se lavó con agua (50 mL), una solución saturada de $NaHCO_3$ (100 mL), salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 5 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)benzaldehído (1,2 g) como un líquido incoloro. El producto crudo se utilizó como tal en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 6: 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

[0222]

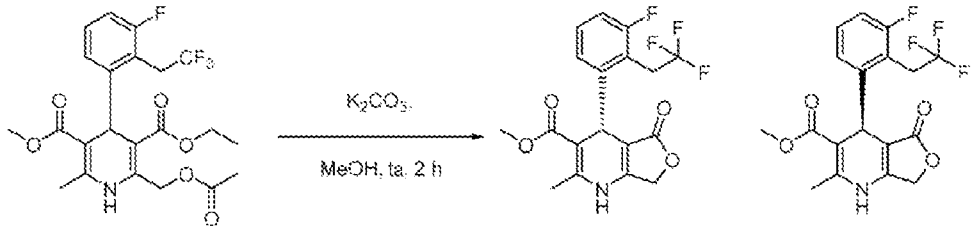


[0223] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 5, 150 mg, 0,728 mmol) para obtener el compuesto del título 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo (100 mg, crudo).

[0224] LCMS t_R = 1,736 min; MS m/z 474,1 [M+H]+; [Método 1].

Paso 7: 4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0225]



[0226] Se sintetizó 4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el paso 2 del método general II (utilizando el intermedio del paso 5, 100 mg, 0,211 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0-50 %) de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título 4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetilo)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (40 mg) como un sólido blanquecino.

LCMS t_R = 1,508 min; MS m/z 386,3 [M+H]+; [Método 7]

La mezcla racémica se separó en sus enantiómeros utilizando HPLC quiral [Método 3].

Ejemplo 9

[0227] 11 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco, (22 %)

HPLC quiral t_R = 6,264 min (fase móvil: A=n-HEXANO, B= 0,1 % de TFA EN ETANOL:METANOL(1:1); 1 mL/min; isocrático: 80 : 20 (A: B); columna: Lux, Cellulose-4 (250 X 4,6 mm, 5 micras).

LCMS t_R = 1,508 min; MS m/z 386,3 [M+H]+; [Método 7]

^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,41 (s, 1H), 7,25 - 7,19 (m, 1H), 7,02 - 6,98 (m, 1H), 6,93 (ddd, J = 9,5, 8,1, 1,3 Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,66 - 4,57 (m, 2H), 4,43 (ddd, J = 19,7, 11,2, 5,9 Hz, 1H), 3,80 - 3,63 (m, 1H), 3,45 (s, 3H), 2,44 (s, 3H).

Ejemplo 9b

[0228] 11 mg del segundo enantiómero eluido como un sólido blanco, (22 %)

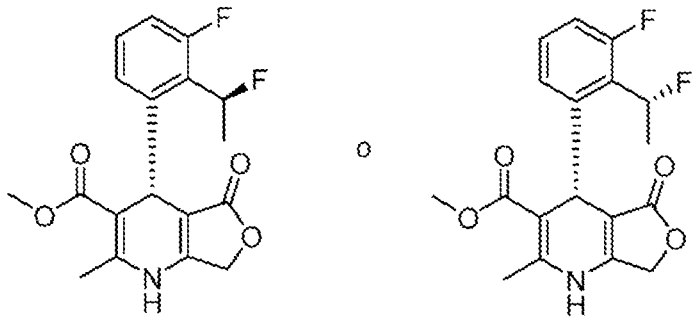
HPLC quiral t_R = 6,708 min (fase móvil: A=n-HEXANO, B= 0,1 % de TFA EN ETANOL:METANOL(1:1); 1 mL/min; isocrático: 80 : 20 (A: B); columna: Lux, Cellulose-4 (250 X 4,6mm, 5 micras).

LCMS t_R = 1,509 min; MS m/z 386,4 [M+H]+; [Método 7]

^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,56 (s, 1H), 7,25 - 7,19 (m, 1H), 7,02 - 6,98 (m, 1H), 6,93 (dd, J = 9,5, 8,1Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,66 - 4,57 (m, 2H), 4,43 (m, 1H), 3,80 - 3,63 (m, 1H), 3,45 (s, 3H), 2,44 (s, 3H).

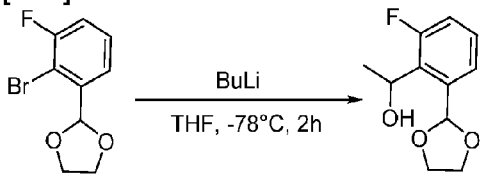
Ejemplo 10. (S)-4-(3-fluoro-2-((S o R)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0229]



Paso 1: 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)etan-1-ol

[0230]

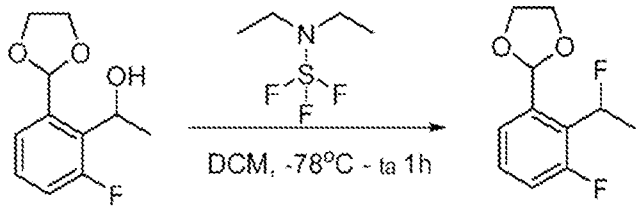


[0231] Una solución de 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 1, ejemplo 1, 30 g, 121,42 mmol), que se puede adquirir de proveedores comerciales, en THF (300 mL) en atmósfera de nitrógeno se enfrió hasta -78 °C. Se añadió una solución de n-BuLi en n-hexano (58,3 mL, 2,5 M, 147,71 mmol) en 10 min y la mezcla resultante se agitó durante 1 h a -78 °C. Se añadió acetaldehído (6,42 g, 145,71 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 1 h a -78 °C. La mezcla de reacción se desactivó con una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (50 mL), salmuera (50 mL) y se secaron con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0-10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)etan-1-ol (15 g) como un líquido incoloro.

[0232] ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,30 -7,18 (m, 1H), 7,10 -7,01 (m, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,29 (td, J = 6,9, 13,5 Hz, 1H), 4,15 - 3,95 (m, 4H), 2,75 - 2,69 (m. 1H), 1,58 (dd, J = 6,6, 22,8 Hz, 3H).

Paso 2: 2-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano

[0233]

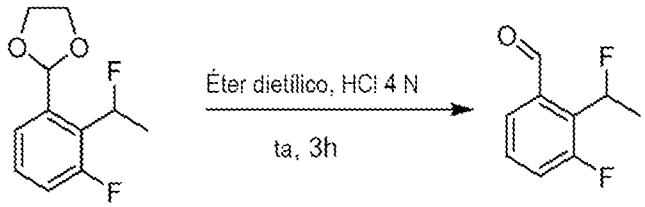


[0234] A una solución de 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)etan-1-ol (del paso 1, 15 g, 70,68 mmol) en diclorometano (150 mL) a -78 °C, se añadió trifluoruro de dietilaminoazufre (19,3 mL, 141,37 mmol). Se permitió que la solución resultante se calentara y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se desactivó con cloruro de amonio saturado (20 mL) a 0 °C y se diluyó con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 → 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano (8,5 g) como un líquido incoloro.

[0235] ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,30 - 7,18 (m, 1H), 7,13 - 7,01 (m, 1H), 6,20 - 5,95 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 4,16 - 4,02 (m, 4H), 1,74 (dd, J = 7,2, 23,1 Hz, 3H).

Paso 3: 3-fluoro-2-(1-fluoroetil)benzaldehído

[0236]

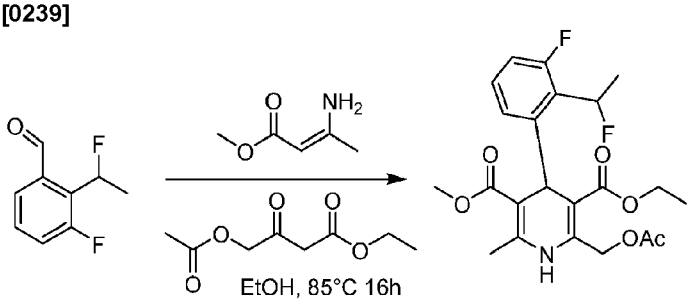


[0237] A una solución de 2-(3-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-1,3-dioxolano (del paso 2, 8,5 g, 69,38 mmol) en éter dietílico (150 mL), se añadió HCl 4 N (85 mL) a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Esto se lavó con agua (100 mL), una solución saturada de $NaHCO_3$ (200 mL), salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el compuesto del título 3-difluoro-2-(1-fluoroetil)benzaldehído (6,5 g) como un líquido incoloro. (Nota: el aldehído obtenido es de naturaleza volátil)

[0238] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 10,44 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,47 (td, J = 8,1, 8,0, 5,2 Hz, 1H), 7,35 - 7,30 (m, 1H), 6,41 (dq, J = 46,8, 6,6 Hz, 1H), 1,92 - 1,72 (m, 3H).

Paso 4: 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

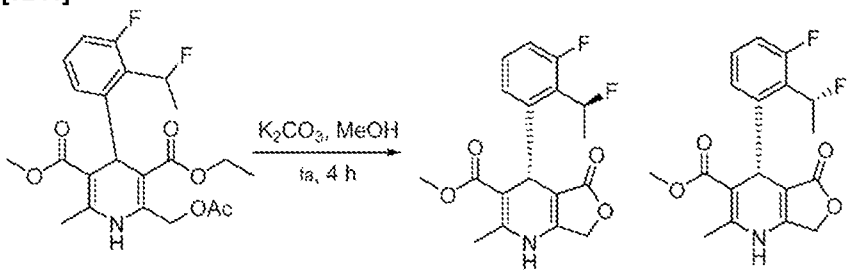
[0239]



[0240] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 3, 1000 mg, 1,88 mmol) para obtener 2-(acetoximetil)-4-(3,5-difluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo junto con 2-(acetoximetil)-4-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo como crudo, que se utilizó directamente en el paso 5.

Paso 5: 4-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0241]



[0242] Se sintetizó 4-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el paso 2 del método general II (utilizando la mezcla del intermedio del paso 4). La purificación del producto crudo dos veces mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 100 %) de acetato de etilo en heptano proporcionó los diastereómeros separados del compuesto del título 4-(3-fluoro-2-(1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (200 mg de cada uno) como sólidos blanquecinos.

200 mg del primer diastereómero eluido se separaron en sus enantiómeros utilizando SFC quiral (columna: SS Whelk-01 21 x 250 mm; caudal: 80 g por minuto; codisolvente: 25 % de MeOH con NH3; detección: 340 nm ; punto de ajuste de BPR: 150 bar)

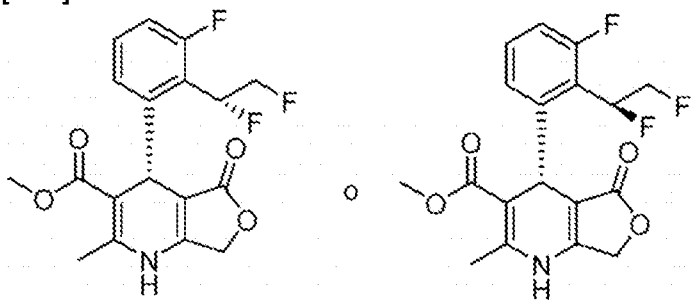
Ejemplo 10

[0243] 80 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco.
SFC quiral t_R = 2,0 min ((S,S) Whelk-O1 (3,5µ) 3x100mm; 5-55 % de MeOH con 0,1 % de NH_3/CO_2 2,5mL/min 1800psi).
LCMS t_R = 2,01 min; MS m/z 348,3 [M-H]-; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 99,87 (s, 1H), 7,32 (m, 1H), 7,06 - 6,97 (m, 2H), 6,44 - 6,23 (m, 1H), 4,98 (s, 1H), 4,92 - 4,77 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 1,86 - 1,75 (m, 3).

[0244] Los estereoisómeros restantes no se caracterizaron.

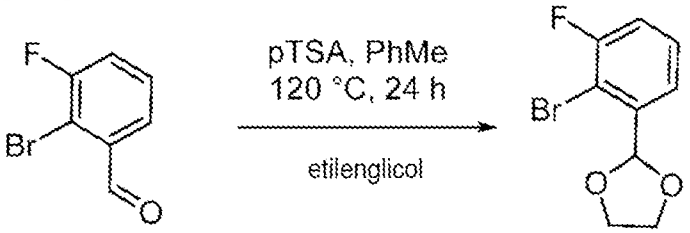
Ejemplo 11. (S)-4-(2-((R o S)-1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0245]



Paso 1: 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano

[0246]

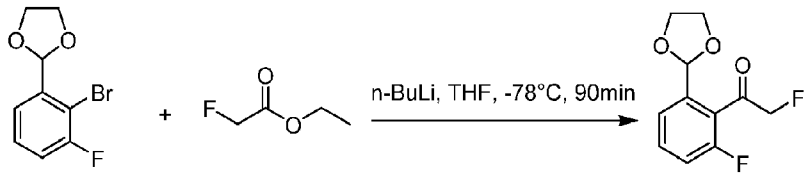


[0247] A una solución de 2-bromo-3-fluorobenzaldehído (60 g, 295,56 mmol) y etilenglicol (65,4 mL, 1182,2 mmol), que se pueden adquirir de proveedores comerciales, en tolueno (600 mL), se añadió ácido p-toluenosulfónico monohidratado (28,11 g, 147,78 mmol). La solución resultante se agitó a 120 °C durante 24 h utilizando un aparato de dean-stark. La reacción se añadió a agua (2 L) y se extrajo en acetato de etilo (3 L). El acetato de etilo se lavó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (1 L), salmuera y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (60 g) como un líquido incoloro.

[0248] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 7,40 (dd, J = 7,8, 1,6 Hz, 1H), 7,35 - 7,25 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 4,30 - 3,90 (m, 4H).

Paso 2: 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)-2-fluoroetan-1-ona

[0249]

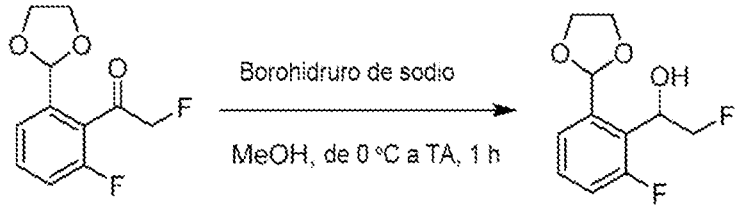


[0250] Una solución de 2-(2-bromo-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 1, 26 g, 105,23 mmol) en THF (250 mL) en atmósfera de nitrógeno se enfrió hasta -78 °C. A continuación, se añadió una solución de n-butillitio en n-hexano (44,19 mL, 2,5 M, 110,49 mmol) y la reacción se agitó durante 30 min a -78 °C. A continuación, se añadió 2-fluoroacetato de etilo (22,33 g, 210,47 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante otros 60 min a -78 °C. La mezcla de reacción se desactivó con una solución saturada de cloruro de amonio (100 mL) y se extrajo con acetato de etilo (2 × 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (250 mL), salmuera (250 mL) y se secaron con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)-2-fluoroetan-1-ona (16,2 g) como un líquido incoloro.

[0251] ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,45 (m, 1H), 7,37 (d, J = 7,8, 1H), 7,13 (dd, J = 9,3, 8,2 Hz, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,23 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 5,11 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 4,08 - 3,87 (m, 4H).

Paso 3: 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)-2-fluoroetan-1-ol

[0252]

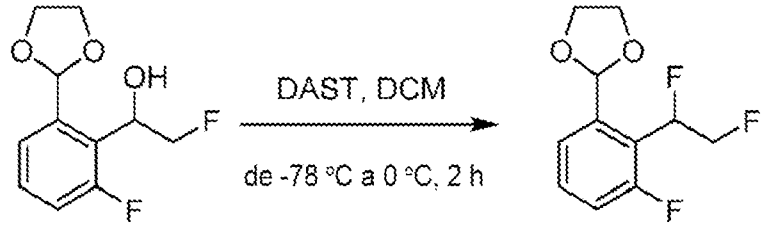


[0253] A una solución agitada de 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)-2-fluoroetan-1-ona (19,6 g, 85,89 mmol) en metanol (100 mL), se añadió borohidruro de sodio (3,899 g, 103,07 mmol) a 0°C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se desactivó con agua-hielo y se extrajo con acetato de etilo (2 × 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (250 mL), salmuera (250 mL) y se secaron con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0-30 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)-2-fluoroetan-1-ol (18 g) como un líquido incoloro.

[0254] ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,44 (dd, J = 7,9, 1,2 Hz, 1H), 7,33 (dd, J = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 7,10 (dd, J = 8,2, 1,3 Hz, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,47 (m, 1H), 4,98 - 4,51 (m, 2H), 4,22 - 3,97 (m, 4H), 3,04 (m, 1H).

Paso 4: 2-(2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano

[0255]



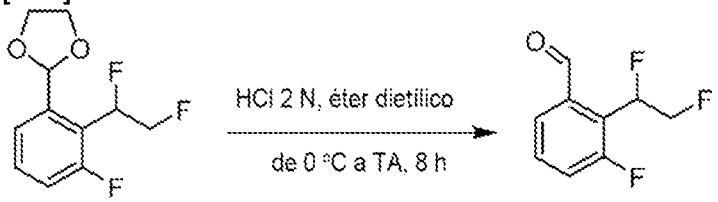
[0256] Una solución de 1-(2-(1,3-dioxolan-2-il)-6-fluorofenil)-2-fluoroetan-1-ol (del paso 3, 18 g, 78,18 mmol) en diclorometano (150 mL) se enfrió hasta -78 °C, a continuación se añadió trifluoruro de dietilaminoazufre (15,49 mL, 117,28 mmol) y la mezcla de reacción resultante se agitó a -78 °C durante 1h, a continuación se llevó lentamente hasta 0 °C y se agitó durante 1 h adicional. Se añadió agua (150 mL) y el producto se extrajo en diclorometano (2 × 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de bicarbonato de sodio (2 x 200 mL), agua (200 mL), salmuera (200 mL) y se secaron con Na_2SO_4.

[0257] El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolane (12,4 g) como un líquido incoloro.

[0258] ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,45 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,42 - 7,35 (m, 1H), 7,12 (dd, J = 10,6, 8,2 Hz, 1H), 6,21 (m, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,22 - 4,85 (m, 1H), 4,75 - 4,42 (m, 1H), 4,20 - 3,97 (m, 4H).

Paso 5: 2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorobenzaldehído

[0259]

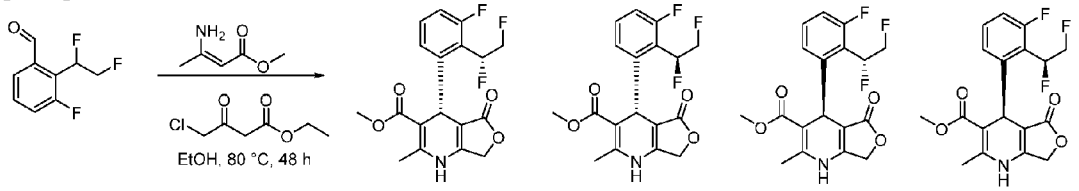


[0260] A una solución de 2-(2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-1,3-dioxolano (del paso 4, 12,4 g, 53,40 mmol) en éter dietílico (150 mL), se añadió HCl 2 N (100 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. La mezcla de reacción se añadió a agua (100 mL) y se extrajo con éter dietílico (200 mL). La fase orgánica se lavó con agua (100 mL), salmuera (100 mL) y se secó con Na_2SO_4. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorobenzaldehído (10 g) como un líquido incoloro.

[0261] ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 10,30 (s, 1H), 7,88 - 7,70 (m, 1H), 7,56 (m, 1H), 7,44 - 7,30 (m, 1H), 6,70 - 6,36 (m, 1H), 4,95 - 4,70 (m, 2H)

Paso 6: 4-(2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0262]



[0263] Se sintetizó 4-(2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el método general ! (utilizando el aldehído del paso 5, 450 mg, 2,39 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 70 %) de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título 4-(2-(1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (400 mg) como una mezcla de diastereómeros y como un sólido blanquecino.

[0264] La mezcla diastereomérica (400 mg) se separó utilizando HPLC prep. [Método 7].

[0265] 60 mg del primer diastereómero eluido como un sólido blanco.

LCMS t_R = 1,463 min; MS m/z 365,85 [M-H]-; [Método 11]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,93 (s, 1H), 7,42- 7,39 (m, 1H), 7,17 - 6,96 (m, 2H), 6,48 - 6,47 (m, 1H), 5,22 - 4,69 (m, 2H), 5,04 (s, 1H), 4,89 - 4,83 (m, 2H), 3,42 (s, 3H), 2,37 - 2,30 (m, 3H). 56,4 mg del segundo diastereómero eluido como un sólido blanco.

LCMS t_R = 1,466 min; MS m/z 365,85 [M-H]-; [Método 12]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,93 (s, 1H), 7,45 - 7,43 (m, 1H), 7,17 - 6,96 (m, 2H), 6,49 - 6,46 (m, 1H), 5,22 - 4,69 (m, 2H), 5,04 (s, 1H), 4,89 - 4,83 (m, 2H), 3,42 (s, 3H), 2,37 - 2,30 (m, 3H).

[0266] El segundo diastereómero eluido se separó adicionalmente en sus enantiómeros utilizando SFC quiral (fase móvil: 12% de MeOH/CO_2, 70 mL/min; columna: OZ-H (2 × 25 cm)).

Ejemplo 11

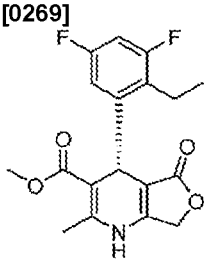
[0267] 22,8 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco (77 %)
SFC t_R = 2,81 min ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 -- 55 % de MeOH/IPA (1:1) (NH_4OH 10 mM/CO_2)).
LCMS t_R = 1,89 min; MS m/z 366,1 [M-H]-; [Método 10]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,93 (s, 1H), 7,50 - 7,37 (m, 1H), 7,14 - 7,00 (m, 2H), 6,48 (ddd, J = 48,9, 17,8, 8,6 Hz, 1H), 5,20 - 4,93 (m, 3H), 4,92 - 4,80 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 2,33 (s, 3H).

Ejemplo 11b

[0268] 22,0 mg del segundo enantiómero eluido como un sólido blanco (74,1 %)
SFC t_R = 2,93 min ((SS) Whelk-O1 4,6 × 100 mm, 5 µm, 5 -- 55 % de MeOH/IPA (1:1) (NH_4OH 10 mM/CO_2)).
LCMS t_R = 1,87 min; MS m/z 365,9 [M-H]-; [Método 10]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,93 (s, 1H), 7,49 - 7,35 (m, 1H), 7,14 - 7,00 (m, 2H), 6,48 (ddd, J = 48,5, 17,8, 8,3 Hz, 1H), 5,22 - 4,93 (m, 3H), 4,86 (d, J = 3,8 Hz, 2H), 3,43 (s, 3H), 2,33 (s, 3H).

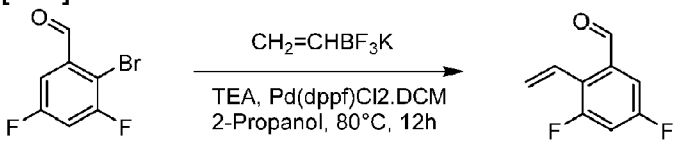
Ejemplo 12. (S)-4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0269]



Paso 1: 3,5-difluoro-2-vinilbenzaldehído

[0270]

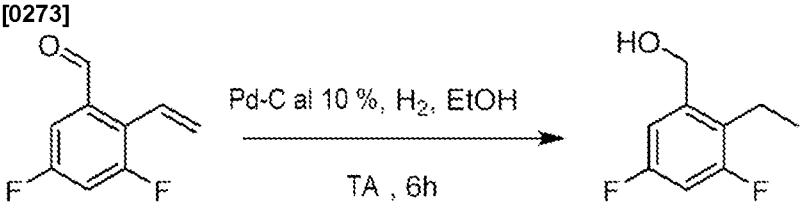


[0271] A una solución de 2-bromo-3,5-difluorobenzaldehído (600 mg, 2,71 mmol) y viniltrifluoroborato de potasio (727 mg, 5,42 mmol), que se pueden adquirir de proveedores comerciales, en 2-propanol (20 mL), se añadió trimetilamina (1,13 mL, 8,14 mmol). La mezcla de reacción resultante se desgasificó con nitrógeno y a continuación se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II).DCM (221 mg, 0,271 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a 80 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite, se lavó con éter dietílico (50 mL), el filtrado se concentró a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -> 5 %) de acetato de etilo en hexano proporcionó el compuesto del título 3,5-difluoro-2-vinilbenzaldehído (400 mg) como un líquido amarillo.

[0272] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 10,21 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,43 (dd, J = 8,3 - 2,7, 1H), 7,13 - 6,88 (m, 2H), 5,82 (dd, J = 11,4, 1,1 Hz, 1H), 5,58 (dt, *J*= 17,6, 1,1 Hz, 1H).

Paso 2: (2-etil-3,5-difluorofenil)metanol

[0273]

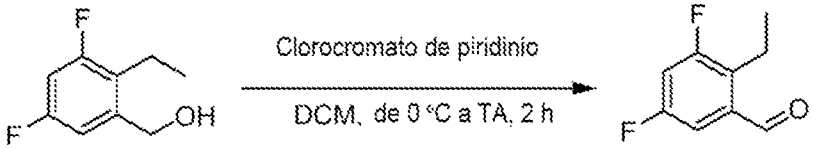


[0274] A una solución de 3,5-difluoro-2-vinilbenzaldehído (del paso 1, 400 mg, 2,37 mmol) en etanol (10 mL), se añadió Pd-C al 10 % (80 mg). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h en atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con acetato de etilo (30 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía

ultrarrápida en sílice con (0 → 30 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título (2-etil-3,5-difluorofenil)metanol (300 mg) como un líquido incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,05 - 6,92 (m, 1H), 6,79 - 6,67 (m, 1H), 4,73 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 2,64 (c, J = 7,1 Hz, 2H), 1,69 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,15 (t, J= 7,1 Hz, 3H).

Paso 3: 2-etil-3,5-difluorobenzaldehído

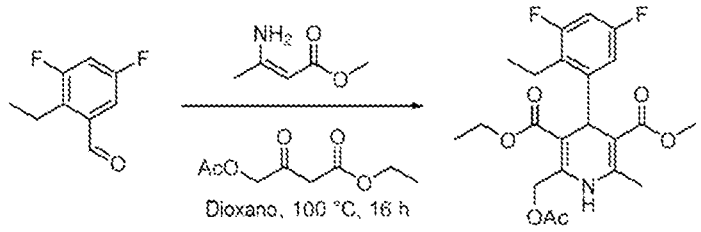
[0275]



[0276] A una solución de (2-etil-3,5-difluorofenil)metanol (del paso 2, 300 mg, 1,74 mmol) en diclorometano (15 mL), se añadió clorocromato de piridinio (751 mg, 3,48 mmol) en una porción a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (30 mL), se filtró sobre un lecho de celite y se lavó con diclorometano (20 mL). El filtrado se concentró a presión reducida, lo que proporcionó el compuesto del título como un líquido marrón, 2-etil-3,5-difluorobenzaldehído (250 mg). El producto crudo se utilizó como tal en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 4: 2-(acetoximetil)-4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

[0277]

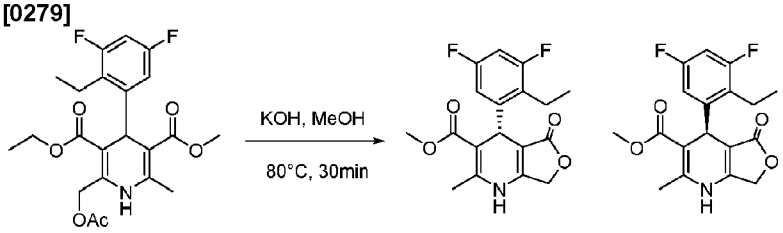


[0278] A una solución de 2-etil-3,5-difluorobenzaldehído (del paso 3, 250 mg, 1,46 mmol) en dioxano (15 mL), se añadió (Z)-3-aminobut-2-enoato de metilo (169,54 mg, 1,46 mmol) y 4-acetoxi-3-oxobutanoato de etilo (Intermedio A, 276,47 mg, 1,46 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a 100 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se añadió a agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto del título 2-(acetoximetil)-4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo (250 mg) como un líquido marrón. El producto crudo se utilizó como tal en el siguiente paso sin purificación adicional.

LCMS t_R = 1,838 min; MS m/z 438,3 [M+H]+; [Método 8]

Paso 5: 4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0279]



[0280] Se sintetizó 4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el procedimiento del ejemplo 3, paso 6 (utilizando el intermedio del paso 4, 350 mg, 0,80 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 70 %) de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título 4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (80 mg) como un sólido blanquecino.

LCMS t_R = 1,536 min; MS m/z 350,3 [M+H]+; [Método 7]

El producto racémico se separó en sus enantiómeros individuales utilizando HPLC quiral [Método 4]

Ejemplo 12

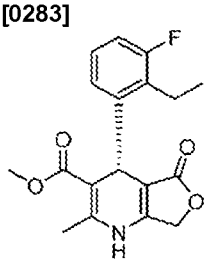
[0281] 27,8 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco, (34%)
HPLC quiral t_R = 5,00 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70: 30 (A: B); columna: Lux, Cellulose-4 (250 × 4,6mm, 5 micras).
LCMS t_R = 1,536 min; MS m/z 350,3 [M+H]+; [Método 7]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,95 (s, 1H), 6,97 (dd, J = 11,2, 8,9 Hz, 1H), 6,71 (dt, J = 9,8, 1,8 Hz, 1H), 4,98 (s, 1H), 4,83 (c, J = 16,1 Hz, 2H), 3,44 (s, 3H), 3,00 (dd, J = 14,3, 7,6 Hz, 1H), 2,77 (dd, J = 14,6, 7,4 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 1,20 (c, J = 8,0 Hz, 3H).

Ejemplo 12b

[0282] 28,3 mg del segundo enantiómero eluido como un sólido blanco, (35%)
HPLC quiral t_R = 5,601 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70: 30 (A: B); columna: Lux, Cellulose-4 (250 X 4,6 mm, 5 micras).
LCMS t_R = 1,534 min; MS m/z 350,3 [M+H]+; [Método 7]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,95 (s, 1H), 6,97 (dd, J = 11,2, 8,9, Hz, 1H), 6,71 (dt, J = 9,8, 1,8 Hz, 1H), 4,98 (s, 1H), 4,83 (c, J = 16,1 Hz, 2H), 3,44 (s, 3H), 3,00 (dd, J = 14,3, 7,6 Hz, 1H), 2,77 (dd, J = 14,6, 7,4 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 1,20 (c, J = 8,0 Hz, 3H).

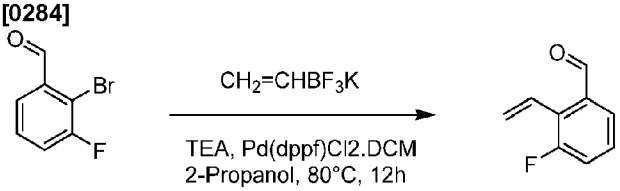
Ejemplo 13. (S)-4-(2-etil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0283]



Paso 1: 3-fluoro-2-vinilbenzaldehído

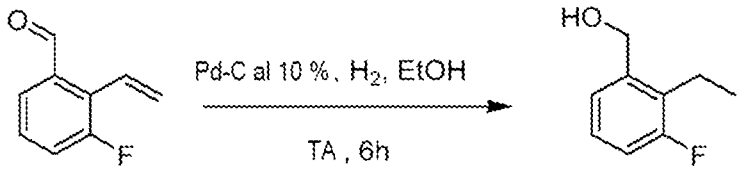
[0284]



[0285] A una solución de 2-bromo-3-fluorobenzaldehído (800 mg, 3,94 mmol) y viniltrifluoroborato de potasio (1,055 g, 7,88 mmol), que se pueden adquirir de proveedores comerciales, en 2-propanol (25 mL), se añadió trimetilamina (1,64 mL, 11,82 mmol). La mezcla de reacción resultante se desgasificó con nitrógeno y a continuación se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II).DCM (321 mg, 0,394 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a 80 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró sobre un lecho de celite, se lavó con éter dietílico (50 mL), el filtrado se concentró a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 5 %) de acetato de etilo en hexano proporcionó el compuesto del título 3-fluoro-2-vinilbenzaldehído (500 mg) como un líquido amarillo.

[0286] ^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 10,23 (s, 1H), 7,69 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,39 (m, 1H), 7,30 (m, 1H), 7,09 (d, J = 17,7 Hz, 1H), 5,81 (m, 1H), 5,64 (d, J = 17,7 Hz, 1H).
Paso 2: (2-etil-3-fluorofenil)metanol

[0287]

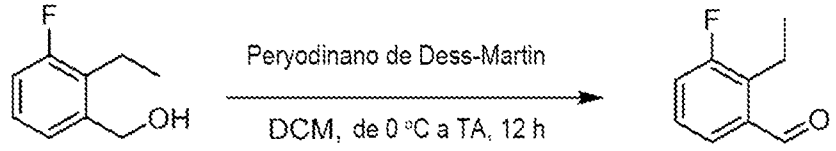


[0288] A una solución de 3-fluoro-2-vinilbenzaldehído (del paso 1, 500 mg, 3,33 mmol) en etanol (10 mL), se añadió Pd-C al 10 % (100 mg). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h en atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró sobre un lecho de celite y se lavó con acetato de etilo (30 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 30 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título (2-etil-3-fluorofenil)metanol (400 mg) como un líquido incoloro.

[0289] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 7,20 - 7,14 (m, 2H), 7,04 - 6,94 (m, 1H), 4,72 (s, 2H), 2,64 (c, J = 7,1 Hz, 2H), 1,67 (s a, 1H), 1,15 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Paso 3: 2-etil-3-fluorobenzaldehído

[0290]

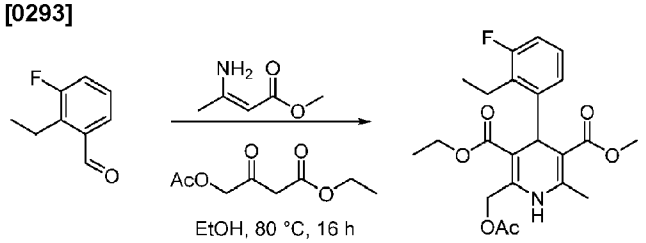


[0291] A una solución de (2-etil-3-fluorofenil)metanol (del paso 2, 400 mg, 2,59 mmol) en diclorometano (15 mL), se añadió peryodinano de Des-Martin (1,65 g, 3,89 mmol) en una porción a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (20 mL), se filtró sobre un lecho de celite y se lavó con diclorometano (20 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y la purificación del producto crudo mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 -- 10 %) de acetato de etilo en éter de petróleo proporcionó el compuesto del título 2-etil-3-fluorobenzaldehído (150 mg) como un líquido incoloro.

[0292] ^{1}H RMN (300 MHz, Cloroformo-d) δ 10,22 (s, 1H), 7,63 (d, J= 7,3 Hz, 1H), 7,38 - 7,22 (m, 2H), 3,10 (c, J = 7,1 Hz, 2H), 1,22 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Paso 4: 2-(acetoximetil)-4-(2-etil-3-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo

[0293]

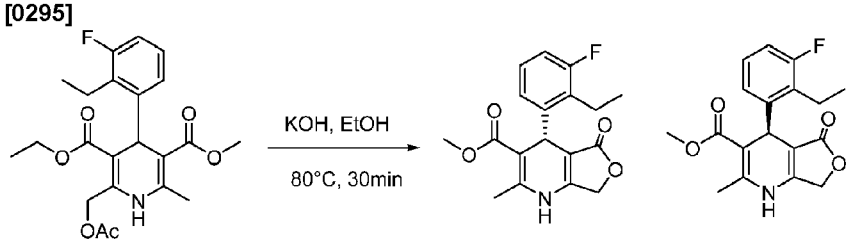


[0294] Se sintetizó 2-(acetoximetil)-4-(2-etil-3-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de 3-etilo y 5-metilo utilizando el paso 1 del método general II (utilizando el aldehído del paso 3, 140 mg, 0,92 mmol) para obtener (160 mg, crudo).

LCMS t_R = 1,758 min; MS m/z 420,1 [M+H]+; [Método 7]

Paso 5: 4-(2-etil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0295]



[0296] Se sintetizó 4-(2-etil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el procedimiento del ejemplo 3, paso 6 (utilizando el intermedio del paso 4, 160 mg, 0,38 mmol). La purificación del producto crudo mediante HPLC prep. [método 4] proporcionó el compuesto del título 4-(2-etil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (50 mg) como un sólido blanquecino.

LCMS t_R = 1,463 min; MS m/z 332,1 [M+H]+; [Método 7]

El producto racémico se separó en sus enantiómeros individuales utilizando HPLC quiral [Método 4]

Ejemplo 13

[0297] 19,2 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanco, (38%)

HPLC quiral t_R = 6,025 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70: 30 (A: B); columna: Lux, 5 micras, Cellulose-4 (250 x 4,6mm, 5 micras).

LCMS t_R = 1,457 min; MS m/z 332,2 [M+H]+; [Método 7] ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,85 (s, 1H), 7,14 (d, J = 8,0, 1H), 6,98 - 6,87 (m, 2H), 4,95 (s, 1H), 4,89 - 4,75 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,09 - 2,91 (m, 1H), 2,87 - 2,74 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 1,21 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Ejemplo 13b

[0298] 20,3 mg del segundo enantiómero eluido como un sólido blanco, (40%)

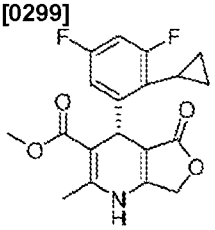
HPLC quiral t_R = 6,792 min (fase móvil: A= n-HEXANO, B= ETANOL (1:1); 1 mL/min; isocrático: 70: 30 (A: B); columna: Lux, 5 micras, Cellulose-4 (250 x 4,6mm, 5 micras).

LCMS t_R = 1,463 min; MS m/z 332,0 [M+H]+; [Método 7]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,85 (s, 1H), 7,14 (d, J = 8,0, 1H), 6,98 - 6,87 (m, 2H), 4,95 (s, 1H), 4,89 - 4,75 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,09 - 2,91 (m, 1H), 2,87 - 2,74 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 1,21 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

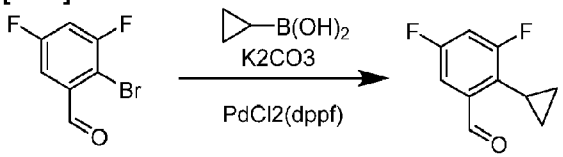
Ejemplo 14. (S)-4-(2-ciclopropil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0299]



Paso 1: 2-ciclopropil-3,5-difluorobenzaldehído

[0300]



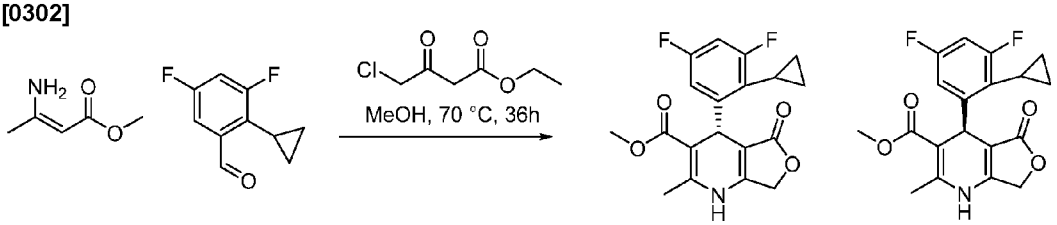
[0301] A una mezcla de 2-bromo-3,5-difluorobenzaldehído (13 g, 58,8 mmol) y ácido ciclopropilborónico (6,06 g, 70,6 mmol) en dioxano (60 mL), se añadió K_2CO_3 (solución 2 N) (58,8 mL, 118 mmol) y aducto de $PdCl_2$(dppf). CH_2Cl_2 (4,8 g, 5,88 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró sobre un lecho de celite. Se añadió agua (75 mL) y el producto se extrajo con acetato de etilo (2 × 100 ml). Las fases de acetato de etilo se combinaron, se lavaron con salmuera y se secaron con $MgSO_4$. El disolvente se eliminó a presión reducida y la purificación mediante cromatografía en columna ultrarrápida automatizada con (0 – 50 %) de acetato de etilo en heptano proporcionó el compuesto del título 2-ciclopropil-3,5-difluorobenzaldehído (7,2 g) como un líquido incoloro.

LCMS t_R = 0,99 min; [Método 2]

^{1}H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 10,68 (s, 1H), 7,38 - 7,26 (m, 1H), 6,91 (ddd, J = 10,6, 8,1, 2,8 Hz, 1H), 1,96 - 1,83 (m, 1H), 1,29 - 1,08 (m, 2H), 0,69 (c, J = 5,7 Hz, 2H).

Paso 2: 4-(2-ciclopropil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0302]



[0303] Se sintetizó 4-(2-ciclopropil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo utilizando el método general ! (utilizando el aldehído del paso 1, 6,5 g, 35,7 mmol). La mezcla de reacción se concentró a la mitad. El sólido resultante se recolectó mediante filtración y se lavó con DCM/metanol (95: 5) (20 mL) y agua (30 mL). Se obtuvieron 3,3 g de un sólido de color amarillo claro cómo producto. El filtrado se concentró y la purificación mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (0 – 100 %) de acetato de etilo en heptano proporcionó un segundo lote de producto (730 mg), ambos sólidos se combinaron para proporcionar el compuesto del título 4-(2-(2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como un sólido de color amarillo claro.

LCMS t_R = 1,01 min; MS m/z 362,2 [M+H]+; [Método 2]

La mezcla racémica se separó en sus enantiómeros utilizando SFC quiral (fase móvil: 30 % de IPA; columna: (SS) Whelk-O1 30 × 250 mm).

Ejemplo 14

[0304] 1,85 g del primer enantiómero eluido como un sólido de color amarillo claro, (27,2 %)

SFC t_R = 2,96 min (Whelk-O1 SS 4,6 × 100 mm 5µm, 5-55 % de IPA en CO_2 5 mL/min)

LCMS t_R = 2,19 min; MS m/z 362,2 [M+H]+; [Método 4]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,85 (s, 1H), 6,92 (ddd, J = 11,4, 8,9, 2,8 Hz, 1H), 6,79 - 6,69 (m, 1H), 5,48 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 4,93 - 4,75 (m, 2H), 3,47 (d, J = 2,0 Hz, 3H), 2,31 (d, J = 1,5 Hz, 3H), 2,10 - 1,97 (m, 1H), 1,19 - 1,08 (m, 1H), 1,01- 0,87 (m, 2H), 0,74 - 0,62 (m, 1H).

[0305] La estereoquímica del Ejemplo 14, 2-metil-5-oxo-4-fenil-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo, se determinó mediante análisis cristalográfico de rayos X de monocristal y se confirmó que el enantiómero activo es el enantiómero S (Figura 2).

Ejemplo 14b

[0306] 2,02 g del segundo enantiómero eluido como un sólido de color amarillo claro, (29,8 %)

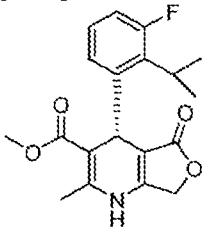
SFC t_R = 3,32 min (Whelk-O1 SS 4,6 × 100 mm 5µm, 5-55 % de IPA en CO_2 5 mL/min)

LCMS t_R = 2,16 min; MS m/z 362,2 [M+H]+; [Método 4]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,85 (s, 1H), 6,92 (ddd, J = 11,4, 8,9, 2,8 Hz, 1H), 6,79 - 6,69 (m, 1H), 5,48 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 4,93 - 4,75 (m, 2H), 3,47 (d, J = 2,0 Hz, 3H), 2,31 (d, J = 1,5 Hz, 3H), 2,10 - 1,97 (m, 1H), 1,19 - 1,08 (m, 1H), 1,01- 0,87 (m, 2H), 0,74 - 0,62 (m, 1H).

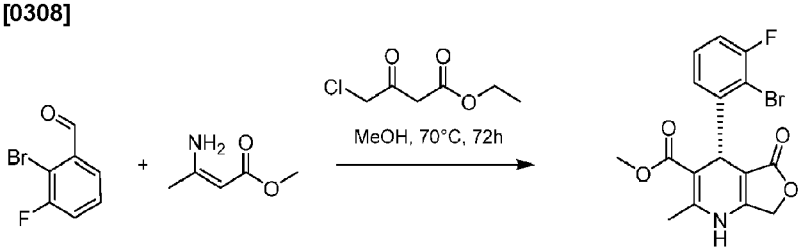
Ejemplo 15. (S)-4-(3-fluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0307]



Paso 1: (S)-4-(2-bromo-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0308]

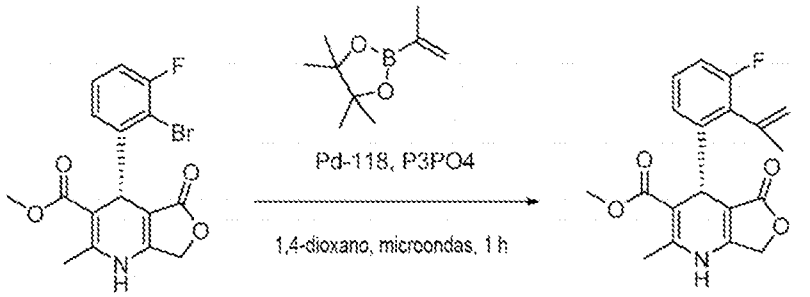


[0309] Se sintetizó (S)-4-(2-bromo-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo racémico utilizando el procedimiento general I utilizando 2-bromo-3-fluorobenzaldehído (15 g, 73,9 mmol), que se puede adquirir de proveedores comerciales. El sólido resultante en la mezcla de reacción se recolectó mediante filtración y se secó para obtener 9 g de un sólido amarillo (31,9 %). El producto racémico se separó en sus enantiómeros utilizando una columna de SFC quiral: SS Whelk-O1 30 x 250 mm; caudal: 80 g por minuto; codisolvente: 40 % de MeOH; detección: 340 nm ; punto de ajuste de BPR: 125 bar;

[0310] para obtener 4,12 g del primer enantiómero eluido como un sólido de color amarillo pálido (27,7 %)
SFC t_R = 2,93 min; SS Whelk O1; 5-55 % de MeOH en CO_2 5mL/min
LCMS t_R = 1,79 min; MS m/z 382,0 [M+0]+; [Método 3]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,90 (s, 1H), 7,34 (td, J = 8,1, 5,7 Hz, 1H), 7,23 - 7,01 (m, 2H), 5,22 (s, 1H), 4,83 (d, J = 2,1 Hz, 2H), 3,42 (s, 3H), 2,31 (s, 3H).

Paso 2: (S)-4-(3-fluoro-2-(prop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0311]

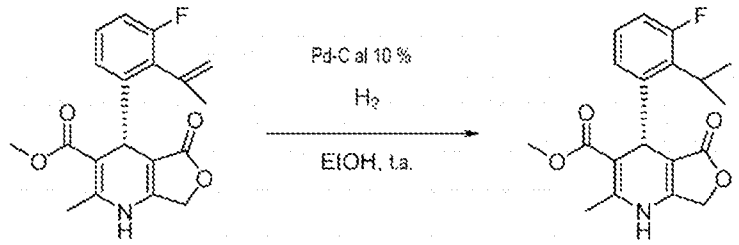


[0312] En un matraz de fondo redondo dotado de una barra de agitación magnética, se introduce (S)-4-(2-bromo-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (del paso 1, 2000 mg, 5,23 mmol), éster pinacolínico del ácido isopropenilborónico (1,553 mL, 7,85 mmol), dioxano (26,2 mL), fosfato de potasio tribásico acuoso 2 M (5,23 mL, 10,47 mmol) y Pd-118 (171 mg, 0,262 mmol). El vial se sella y se purga con nitrógeno, a continuación se somete a microondas a 100 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con EtOAc (4 × 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera y se secan con sulfato de sodio. El disolvente se evapora a presión reducida. La purificación del producto crudo mediante cromatografía en columna ultrarrápida de sílice (0 -- 75 % de acetato de etilo en heptano) proporcionó el compuesto del título (S)-4-(3-fluoro-2-(prop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (1,34 g, 64,9 %) como un sólido de color amarillo pálido. LCMS t_R = 2,06 min; MS m/z 344,2 [M+H]+; [Método 4]

[0313] ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,79 (s, 1H), 7,23 (td, J = 7,9, 5,9 Hz, 1H), 7,05 (dd, J = 7,9, 1,4 Hz, 1H), 6,99 - 6,93 (m, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,40 - 5,37 (m, 1H), 5,04 (s, 1H), 4,81 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 3,47 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

Paso 3: (S)-4-(3-fluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0314]



[0315] En un vial de reacción dotado de una barra de agitación magnética, se introduce (S)-4-(3-fluoro-2-(prop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (del paso 2, 300 mg, 0,874 mmol), paladio sobre carbón (93 mg, 0,874 mmol) y EtOH (3 mL). El vial se sella y se le acopla un globo de hidrógeno (1,761 mg, 0,874 mmol). El vial se somete al vacío y se rellena de nuevo con hidrógeno y se deja agitar a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se diluye con metanol y se filtra a través de un lecho de celite. El filtro se lava con 100 mL de metanol. El filtrado recolectado se concentra a presión reducida. La purificación del producto crudo mediante cromatografía en columna ultrarrápida de sílice (0 -- 100 % de acetato de etilo en heptano) proporcionó el compuesto del título (S)-4-(3-fluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como un sólido blanquecino (141,5 mg, 44.5 %).

Ejemplo 15

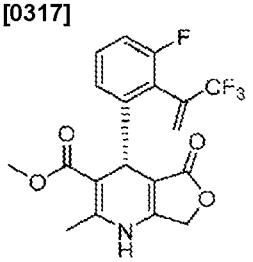
[0316]

LCMS t_R = 2,26 min; MS m/z 346,2 [M+H]+; [Método 4]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,81 (s, 1H), 7,13 (td, J = 8,0, 5,6 Hz, 1H), 6,97 - 6,92 (m, 1H), 6,88 (ddd, J = 12,6, 8,0, 1,3 Hz, 1H), 5,06 (s, 1H), 4,81 (d, J = 4,9 Hz, 2H), 3,67 (p, J = 7,3 Hz, 1H), 3,45 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 1,34 (ddd, J = 25,8, 7,0, 1,7 Hz, 6H).

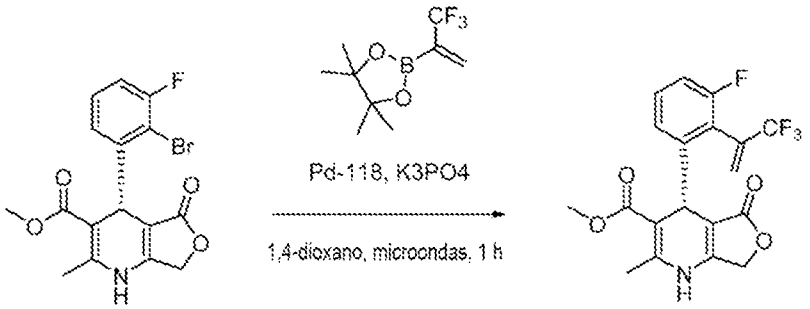
Ejemplo 16. (S)-4-(3-fluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0317]



Paso 1: (S)-4-(3-fluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0318]



[0319] En un vial de reacción para microondas, se introduce (S)-4-(2-bromo-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (intermedio del paso 1, ejemplo 15, 215 mg, 0,563 mmol), 4,4,5,5-tetrametil-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (125 mg, 0,563 mmol), 1,4-dioxano (2 mL), fosfato de potasio tribásico acuoso 2 M (0,563 mL, 1,126 mmol) y Pd-118 (36,7 mg, 0,056 mmol). El vial se sella y se purga con nitrógeno, a continuación se calienta hasta 120 °C en un reactor de microondas Biotage durante 3 horas. A continuación, la mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con EtOAc (3 × 10 mL). Los extractos

orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La purificación del producto crudo mediante cromatografía HPLC (columna: X-bridge 30 × 50 mm 5 µm; MeCN/H_2O con NH_4OH 5 mM; 75 mL/min; 1,5 mL de volumen de inyección) seguida de liofilización proporcionó el compuesto del título (S)-4-(3-fluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como un polvo blanco (14,2 mg, 5,7 %).

Ejemplo 16

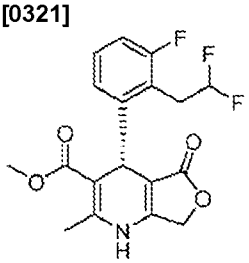
[0320]

LCMS t_R = 2,15 min; MS m/z 398,2 [M+H]+; [Método 4]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,88 (d, J = 24,3 Hz, 1H), 7,42 (td, J = 8,1, 5,9 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,10 (ddd, J = 9,7, 8,1, 1,4 Hz, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 4,92 (s, 1H), 4,86 (d, J = 3,2 Hz, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,25 (s, 3H).

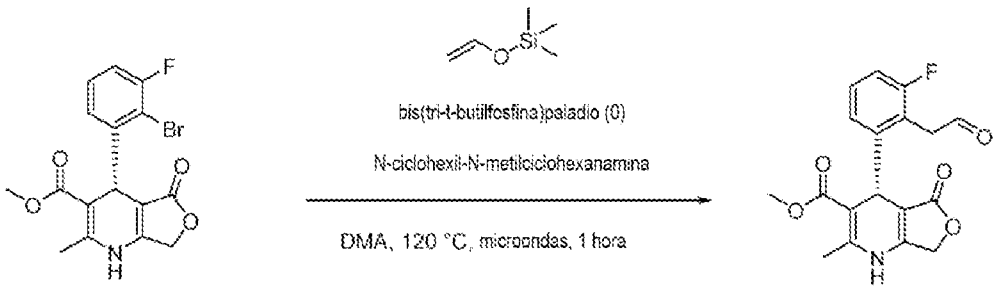
Ejemplo 17. (S)-4-(2-(2,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0321]



Paso 1: (S)-4-(3-fluoro-2-(2-oxoetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0322]



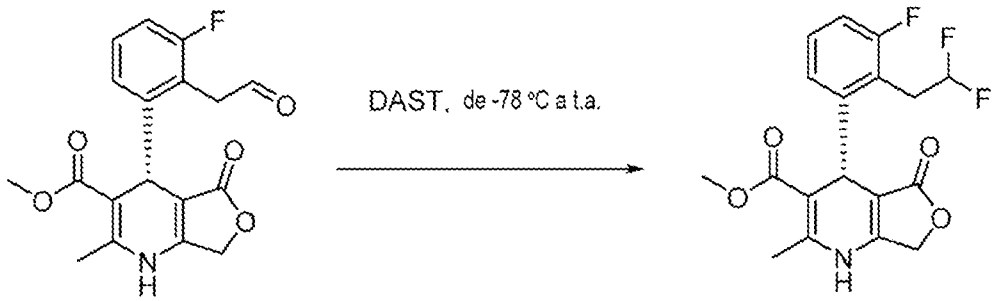
[0323] En un vial de reacción para microondas, se introduce (S)-4-(2-bromo-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (intermedio del paso 1, ejemplo 15, 100 mg, 0,262 mmol), viniloxitrimetilsilano (0,060 mL, 0,392 mmol), DMA (2,5 mL), N-ciclohexil-N-metilciclohexanamina (0,086 mL, 0,392 mmol) y bis(tri-t-butilfosfina)paladio (0) (6,69 mg, 0,013 mmol). El vial se sella y se purga con nitrógeno, a continuación se calienta hasta 120 °C en un reactor de microondas Biotage durante una hora. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con EtOAc (3 × 15 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida. La purificación del producto crudo mediante cromatografía en columna ultrarrápida de sílice (0 -- 100 % de acetato de etilo en heptano) proporcionó el compuesto del título (S)-4-(3-fluoro-2-(2-oxoetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como un sólido amarillo (95,1 mg, 105 %).

LCMS t_R = 0,76 min; MS m/z 346,3 [M+H]+; [Método 2]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,87 (s, 1H), 9,67 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,30 (td, J = 8,0, 6,1 Hz, 1H), 7,07 - 7,00 (m, 2H), 4,92 (s, 1H), 4,82 (d, J = 3,2 Hz, 2H), 4,14 (dt, J = 17,6, 2,5 Hz, 1H), 3,93 (dt, J = 17,4, 1,8 Hz, 1H), 3,37 (s, 3H), 2,33 (s, 3H).

Paso 2: (S)-4-(2-(2,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0324]



[0325] En un vial de reacción, se introduce (S)-4-(3-fluoro-2-(2-oxoetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (95,1 mg, 0,275 mmol) y DCM (2,5 mL), a continuación se enfría hasta -78 °C. Se añade cuidadosamente DAST (0,073 mL, 0,551 mmol) a la mezcla de reacción gota a gota. La mezcla de reacción se agita durante una hora a -78 °C, a continuación se retira el baño de refrigeración y la mezcla se agita durante tres horas a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla de reacción se enfría hasta 0 °C y se añade agua gota a gota a la mezcla. El producto se extrae con DCM (3 × 10 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida. La purificación del producto crudo mediante cromatografía HPLC prep. (columna: columna Xbridge C18 OBD 30 × 50 mm 5 µm; fase móvil: MeCN/H_2O con NH_4OH 5 mM; 75 mL/min; 1,5 mL de volumen de inyección) seguida de liofilización proporcionó el compuesto del título (S)-4-(2-(2,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como un polvo blanco (9,6 mg, 8,5 %).

Ejemplo 17

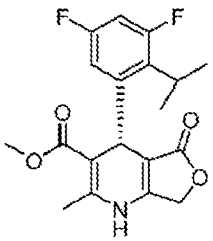
[0326]

LCMS t_R = 2,00 min; MS m/z 368,2 [M+H]+; [Método 4]

^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d4) δ 7,14 (td, J = 7,9, 5,5 Hz, 1H), 6,96 (dd, J = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 6,85 - 6,77 (m, 1H), 6,41 (tt, J = 56,2, 4,7 Hz, 1H), 4,95 (s, 1H), 4,71 (s, 2H), 3,42 (s, 3H), 3,21 (s, 2H), 2,29 (s, 3H).

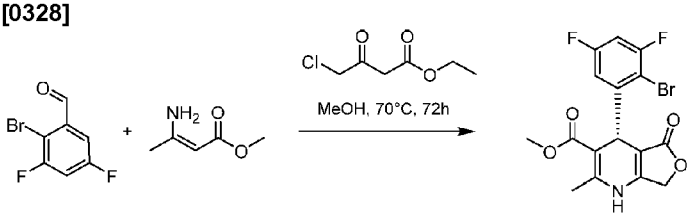
Ejemplo 18. (S)-4-(3,5-difluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0327]



Paso 1: (S)-4-(2-bromo-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0328]



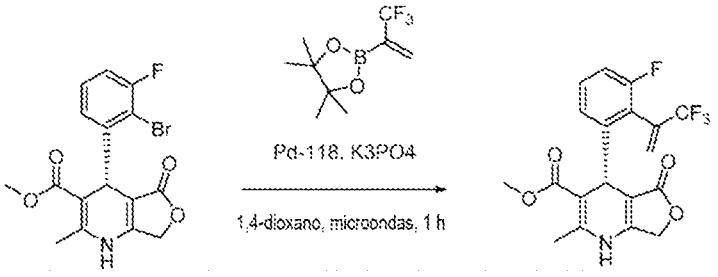
[0329] Se sintetizó (S)-4-(2-bromo-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo racémico utilizando el procedimiento general ! utilizando 2-bromo-3,5-difluorobenzaldehído (120 g, 542,98 mmol), que se puede adquirir de proveedores comerciales. El sólido resultante en la mezcla de reacción se recolectó mediante filtración y se secó para obtener 80g de un sólido amarillo (36,82%). El producto racémico se separó en sus enantiómeros utilizando una columna de SFC quiral: Whelk O1(S, S), 250×4,6mm de D.I., 5µm

fase móvil: A para CO_2 y B para MeOH (0,05 % de DEA); gradiente: 40 % de B; caudal: 2,5 mL/min; contrapresión: 100 bar; temperatura de la columna: 25 °C;

[0330] para obtener 37,7 g del primer enantiómero eluido como un sólido de color amarillo pálido (47,1 %)
SFC t_R = 3,364 min; SS Whelk O1_5_MeOH_DEA_40_25ML
LCMS t_R = 1,97 min; MS m/z 400,1 [M+0]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,95 (s, 1H), 7,28 (td, J = 8,8, 2,9 Hz, 1H), 6,95 (ddd, J = 9,3, 2,9, 1,5 Hz, 1H), 5,25 (s, 1H), 4,95 - 4,69 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 2,32 (s, 3H).

Paso 2: (S)-4-(3,5-difluoro-2-(prop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

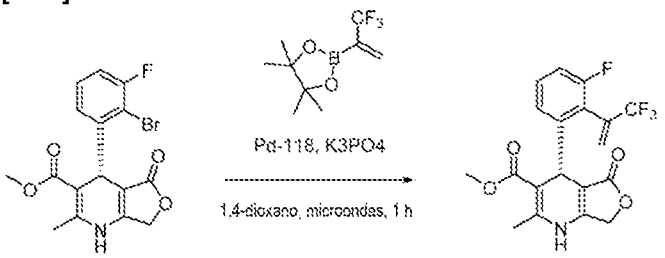
[0331]



[0332] En un matraz de fondo redondo dotado de una barra de agitación magnética, se introduce (S)-4-(2-bromo-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (500 mg, 1,25 mmol), éster pinacolínico del ácido isopropenilborónico (0,433 mL, 2,19 mmol), 1,4-dioxano (6 mL), fosfato de potasio tribásico acuoso 2 M (1,25 mL, 2,5 mmol) y Pd-118 (40,7 mg, 0,062 mmol). El vial se sella y se purga con nitrógeno, a continuación se calienta hasta 120 °C en un reactor de microondas durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con EtOAc (3 × 15 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera, se secan con sulfato de sodio y el disolvente se evapora a presión reducida. La purificación del producto crudo mediante cromatografía en columna ultrarrápida de sílice (0 -- 100 % de acetato de etilo en heptano) proporcionó el compuesto del título (S)-4-(3,5-difluoro-2-(prop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como un sólido de color marrón claro (293,5 mg, 56,6 %).
LCMS t_R = 2,18 min; MS m/z 362,2 [M+H]+; [Método 4]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,85 (s, 1H), 7,02 (ddd, J = 11,1, 8,7, 2,6 Hz, 1H), 6,91 - 6,76 (m, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,06 (s, 1H), 4,82 (c, *J* = 16,1 Hz, 2H), 3,50 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,06 (s, 3H).

Paso 3: (S)-4-(3,5-difluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0333]



[0334] En un vial de reacción, se introduce (S)-4-(3,5-difluoro-2-(prop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,277 mmol), paladio sobre carbón (29,5 mg, 0,277 mmol) y EtOH (3 mL). El vial se sella y se le acopla un globo de hidrógeno. El vial se somete al vacío y se rellena de nuevo con hidrógeno (3x), a continuación se deja agitar a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, la mezcla se diluye con MeOH y se filtra sobre un lecho de celite. El lecho se lava con 50 mL de MeOH. El filtrado resultante se concentra a presión reducida. La purificación del producto crudo mediante cromatografía HPLC prep. (columna: columna Xbridge C18 OBD 30 × 50 mm 5 µm; fase móvil: MeCN/H_2O con NH_4OH 5 mM; 75 mL/min; 1,5 mL de volumen de inyección) seguida de liofilización proporcionó el compuesto del título (S)-4-(3,5-difluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo como un polvo blanco (22,9 mg, 21,6 %).

Ejemplo 18

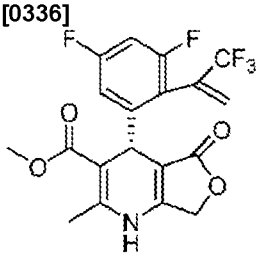
[0335]

LCMS t_R = 2,37; MS m/z 364,1 [M+H]+; [Método 4]

^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d4) δ 6,68 - 6,46 (m, 2H), 5,10 (s, 1H), 4,70 (d, J = 3,1 Hz, 2H), 3,58 (pq, J = 6,9, 3,0 Hz, 1H), 3,45 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 1,27 (ddd, J = 27,5, 7,0, 1,7 Hz, 6H).

Ejemplo 19: (S)-4-(3,5-difluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0336]



[0337] Se preparó (S)-4-(3,5-difluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo de forma análoga al ejemplo 18 en el paso 2 utilizando 4,4,5,5-tetrametil-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (305 mg, 1,374 mmol). El crudo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida automatizada, eluyendo con un gradiente de 0-100 % de EtOAc en heptano en una columna de Si de 12 g, realizando la carga con DCM y se purificó adicionalmente mediante cromatografía prep. de fase inversa dirigida por la masa; condiciones: columna Xbridge C18 OBD 30x50mm 5 µm, ACN/H_2O con 0,1 % de ácido fórmico, 75 mL/min, 1,5mL de inyección; para obtener 23 mg de los compuestos del título como un sólido blanco, rendimiento = 4 %

Ejemplo 19

[0338]

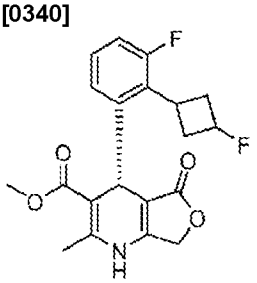
LCMS t_R = 2,24 min; MS m/z 416,1 [M+H]+; [Método 3]

^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,95 (s, 1H), 7,20 (ddd, J = 10,8, 8,5, 2,6 Hz, 1H), 6,97 (dd, J = 9,8, 2,6 Hz, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,49 (s, 1H), 4,94 (s, 1H), 4,86 (d, J = 9,9 Hz, 2H), 3,41 (s, 3H), 2,25 (d, J = 4,1 Hz, 3H).

[0339] La RMN de tipo NOESY confirma que el desdoblamiento observado de algunos picos alifáticos (picos minoritarios en diferentes ppm que no se han indicado anteriormente) se correlaciona con el compuesto original, lo que indica la presencia de rotámeros o atropisómeros intercambiables.

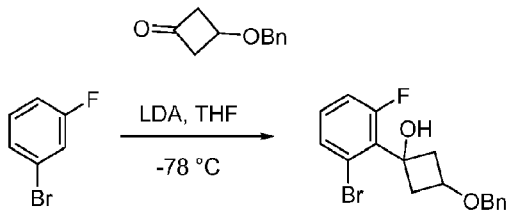
Ejemplo 20: (S)-4-(3-fluoro-2-(3-fluorociclobutilo)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0340]



Paso 1: 3-(benciloxi)-1-(2-bromo-6-fluorofenil)ciclobutan-1-ol

[0341]

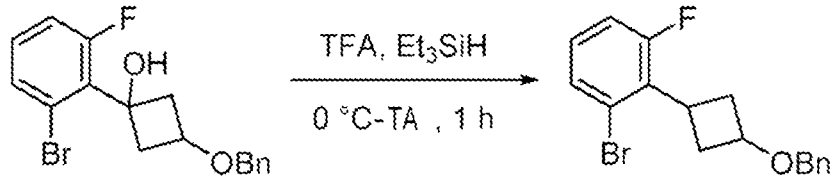


[0342] A una solución agitada de 1-bromo-3-fluorobenceno (5 g, 28,57 mmol) en THF (40 mL) a -78 °C, se añadió LDA (solución 2 M en THF) (15,71 mL, 31,42 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 min. A continuación, se añadió benzoato de 3-oxociclobutilo (5,03 mmol, 28,57 mmol) a -78 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h. La reacción se monitorizó mediante TLC. La masa de reacción se desactivó con una solución saturada de NH_4Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el crudo. El compuesto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (50 %) de acetato de etilo en hexano para proporcionar el compuesto del título 3-(benciloxi)-1-(2-bromo-6-fluorofenil)ciclobutan-1-ol (5,5 g, 55 %) como un líquido de color marrón claro.

^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40 - 7,32 (m, 5H), 7,31 - 7,30 (m, 1H), 7,13 - 7,09 (m, 1H), 7,01 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 4,56 (s, 2H), 4,13 - 4,09 (m, 1H), 3,31 (s, 1H), 3,09 - 3,06 (m, 2H), 2,77 - 2,74 (m, 2H) (*no se observa el protón del OH)*

Paso 2: 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-1-bromo-3-fluorobenceno

[0343]

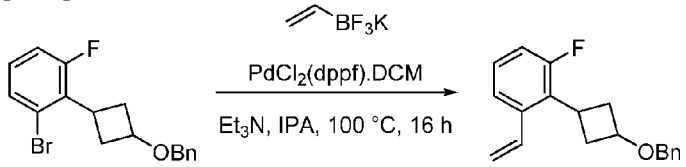


[0344] A una solución enfriada y agitada de 3-(benciloxi)-1-(2-bromo-6-fluorofenil)ciclobutan-1-ol (paso 1, 5,5 g, 15,66 mmol) en TFA (6,0 mL, 78,3 mmol) a 0 °C, se añadió Et_3SiH (5,0 mL, 31,32 mmol). Se permitió que la mezcla de reacción resultante se calentara hasta TA y se agitó durante 1 h. Se añadió agua a la mezcla de reacción y se extrajo el producto con DCM. Las capas orgánicas combinadas se combinaron, se lavaron con una solución saturada de $NaHCO_3$, agua, salmuera, se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (10 %) de acetato de etilo en hexano para proporcionar el compuesto del título 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-1-bromo-3-fluorobenceno (3,9 g, 74 %) como un líquido de color marrón claro.

^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41 - 7,27 (m, 6H), 7,06 - 6,94 (m, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,03 - 3,98 (m, 1H), 3,37 - 3,27 (m, 1H), 2,82 - 2,66 (m, 2H), 2,62 - 2,45 (m, 2H)

Paso 3: 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-1-fluoro-3-vinilbenceno

[0345]

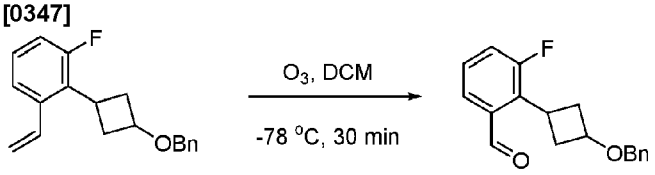


[0346] A una solución agitada de 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-1-bromo-3-fluorobenceno (paso 2, 3,4 g, 10,14 mmol) en IPA (50 mL), se añadió viniltrifluoroborato de potasio (2,71 g, 20,28 mmol) seguido de Et_3N (4,28 mL, 30,42 mmol) y el matraz se purgó con argón gaseoso durante 10 minutos. Se añadió $Pd(dppf)Cl_2$.DCM (0,827 g, 1,014 mmol) y se purgó de nuevo con argón gaseoso durante otros 5 minutos. La mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y el lecho de celite se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice con (10 %) de acetato de etilo en hexano para proporcionar el compuesto del título 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-1-fluoro-3-vinilbenceno (1,7 g, 59 %) como un líquido de color marrón claro.

^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 - 7,28 (m, 5H), 7,21 - 7,04 (m, 2H), 6,95 - 6,84 (m, 2H), 5,54 (d, J = 17,2 Hz, 1H), 5,31 - 5,28 (m, 1H), 4,47 (s, 2H), 4,01 - 3,95 (m, 1H), 3,22 - 3,16 (m, 1H), 2,75-2,71 (m, 2H), 2,46 - 2,40 (m, 2H)

Paso 4: 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-3-fluorobenzaldehído

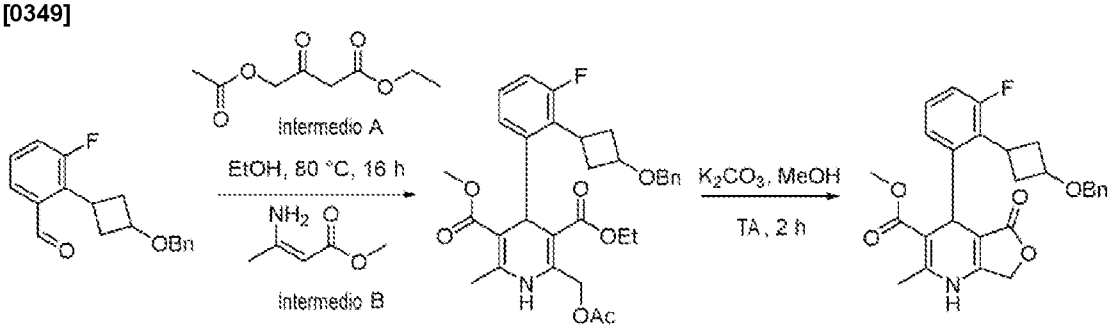
[0347]



[0348] Una solución agitada de 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-1-fluoro-3-vinilbenceno (paso 3, 1,5 g, 5,31 mmol) en DCM (10 mL) se purgó con ozono gaseoso a -78 °C durante 30 min. A continuación, la mezcla de reacción se desactivó con DMS (0,89 mL, 12,04 mmol) a la misma temperatura y se agitó durante otros 50 min. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice (con 10 % de acetato de etilo en hexano) para proporcionar el compuesto del título 2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-3-fluorobenzaldehído (0,55 g, 36 %) como un líquido de color marrón claro.
^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,23 (s, 1H), 7,68 - 7,26 (m, 8H), 4,47 (s, 2H), 4,10 - 4,01 (m, 1H), 3,80 - 3,68 (m, 1H), 2,91 - 2,63 (m, 2H), 2,47 - 2,37 (m, 2H)

Pasos 5 y 6: 4-(2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1, 4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

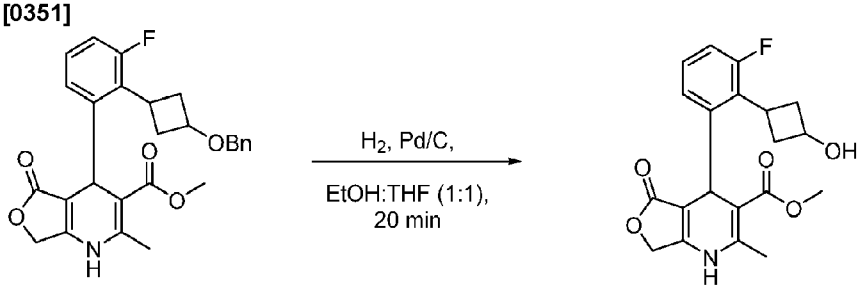
[0349]



[0350] El compuesto del título se sintetizó utilizando el método general II (utilizando el aldehído del paso 4, 0,55 g, 1,93 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en sílice (con 80 % de acetato de etilo en hexano) para proporcionar el compuesto del título 4-(2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (0,31 g, 48 %) como un sólido blanquecino.
LCMS t_R = 1,566 min; MS m/z 462,05 [M-H]-; [Método 10]

Paso 7: 4-(3-fluoro-2-(3-hidroxiciclobutil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

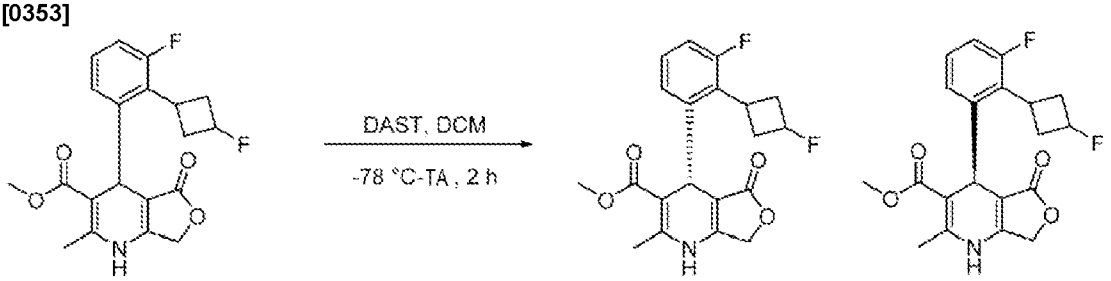
[0351]



[0352] A una solución agitada de 4-(2-(3-(benciloxi)ciclobutil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (paso 6, 0,26 g, 0,56 mmol) en EtOH:THF (1:1, 10 mL), se añadió Pd/C (130 mg, 50 % mol) y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H_2 durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con etanol, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto crudo. El compuesto crudo se purificó mediante HPLC prep. (columna: ZORBAX (150mm × 21,2mm), 5,0µ; fase móvil: A= AGUA; B = ACN; flujo: 20 mL/min) para proporcionar el compuesto del título 4-(3-fluoro-2-(3-hidroxiciclobutil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (115 mg, 61 %) como un sólido blanquecino.
LCMS t_R = 1,395 min; MS m/z 372,1 [M-H]-; [Método 10]

Paso 8: 4-(3-fluoro-2-(3-fluorociclobutil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo

[0353]



[0354] A una solución enfriada y agitada de 4-(3-fluoro-2-(3-hidroxiciclobutil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (paso 7, 100 mg, 0,27 mmol) en DCM (1,5 mL) a -78 °C, se añadió DAST (0,15 mL, 1,20 mmol) gota a gota. Se permitió que la mezcla de reacción resultante se calentara lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se añadió agua a la mezcla de reacción y el producto se extrajo con DCM. La capa orgánica combinada se lavó con una solución saturada de $NaHCO_3$, agua, salmuera, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto crudo. El compuesto crudo se purificó mediante HPLC prep. (columna: ZORBAX (21,2 mm × 150mm); fase móvil: A= AGUA; B = ACN; flujo: 20 mL/min) para proporcionar el compuesto del título 4-(3-fluoro-2-(3-fluorociclobutil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo (17 mg, 17 %) como un sólido blanquecino.
LCMS t_R = 1,524 min; MS m/z 374,15 [M-H]-; [Método 10]

[0355] La muestra racémica se separó en sus enantiómeros mediante HPLC quiral (columna: REGIS WHELK , 250 MM × 21,2 MM X5 MICRAS); fase móvil: N-HEXANO (A) EtOH:MeOH,1:1(B), FLUJO: 15ML/min;
Ejemplo 20

[0356] 5 mg del primer enantiómero eluido como un sólido blanquecino.

[0357] HPLC quiral t_R = 7,987 min (columna: REGIS, (S,S) WHELK-01 (150 × 4,6mm , 5 micras); fase móvil : A= n-HEXANO , B= ETANOL; flujo: 1,0 mL/min).
LCMS t_R = 1,556 min; MS m/z 375,8 [M+H]+; [Método 10] ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,81 (s, 1H), 7,18 - 7,15 (m, 1H), 6,98 - 6,93 (m, 2H), 5,60 - 5,21 (m, 1H), 5,02 (s, 1H), 4,80 (dd, J = 19,6, 16,0 Hz, 2H), 4,60 - 4,51 (m, 1H), 3,43 (s, 3H), 2,93 - 2,59 (m, 4H), 2,31 (s, 3H).

Ejemplo 20b

[0358] 6 mg del segundo enantiómero eluido como un sólido blanquecino.
HPLC quiral t_R = 8,934 min (columna: REGIS, (S,S) WHELK-01 (150 × 4,6mm , 5 micras); fase móvil : A= n-HEXANO , B= ETANOL; flujo: 1,0 mL/min).
LCMS t_R = 1,554 min; MS m/z 376,1 [M+H]+; [Método 10]
^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,81 (s, 1H), 7,18-7,15 (m, 1H), 6,98 - 6,93 (m, 2H), 5,60 - 5,21 (m, 1H), 5,02 (s, 1H), 4,80 (dd, J = 19,6, 16,0 Hz, 2H), 4,60 - 4,51 (m, 1H), 3,43 (s, 3H), 2,93 - 2,59 (m, 4H), 2,31 (s, 3H).

Datos biológicos

[0359] Muchos activadores de los canales del calcio conocidos han mostrado mecanismos complejos de activación de $Ca_V1.2$. Estas moléculas no solo aumentan las corrientes máximas, sino que también tienen mecanismos adicionales que aumentan la concentración intracelular de calcio, por ejemplo, al cambiar la sensibilidad de voltaje del canal a potenciales de membrana más negativos. La Figura 1 ilustra estos mecanismos adicionales representando potenciales de acción cardíaca simulados de un entorno epicárdico y mostrando el impacto de cambiar el voltaje de activación de $Ca_V1.2$ a potenciales de membrana más negativos en una gráfica del potencial (mV) frente al tiempo (ms). Estos mecanismos adicionales podrían desencadenar o propiciar efectos cardiovasculares tales como un aumento de la presión arterial, un cambio en la frecuencia cardíaca o contractilidad, y/o arritmia, debidos a la prolongación del QT. Por ejemplo, se utilizó el modelo de O'Hara-Rudy para investigar el efecto de la modulación de Cav1.2 sobre la duración potencial de la acción y el riesgo de arritmia. Se identificó que un cambio de hiperpolarización > 12 mV en la curva de activación podría conducir potencialmente a una

prolongación de QT > 15 % y un mayor riesgo de arritmia. Por lo tanto, el hecho de minimizar cualesquiera cambios en la sensibilidad al voltaje podría conducir a compuestos con un riesgo reducido de prolongación de QT y arritmia cardíaca.

[0360] Los compuestos de fórmula (I) son activadores muy potentes de $Ca_V1.2$ con un perfil biofísico que minimiza los riesgos cardiovasculares expuestos anteriormente. En primer lugar, los compuestos de fórmula (I) limitan sus efectos sobre la sensibilidad al voltaje al minimizar los cambios de hiperpolarización hasta valores < 9 mV para mitigar el potencial de arritmia. En segundo lugar, los compuestos de fórmula (I) aumentan las corrientes máximas de $Ca_V1.2$ en no más de 2,5 veces, con lo que limitan de este modo la sobreactivación del canal. En tercer lugar, los compuestos de fórmula (I) no retrasan la inactivación de los canales de $Ca_V1.2$, un mecanismo fisiopatológico subyacente a los síntomas cardíacos del síndrome de Timothy. Además, los compuestos de fórmula (I) están diseñados para maximizar la exposición en el cerebro al no mostrar una descarga significativa en el cerebro.

Generación y mantenimiento de la línea celular $Ca_V1.2$-HEK293(AUX)

[0361] La línea celular $Ca_V1.2$-HEK293(AUX) monoclonal expresa constitutivamente la subunidad humana alfa 1 (α1) de $Ca_V1.2$ (*CACNA1C*) y presenta una expresión inducible por doxiciclina de la subunidad auxiliar alfa2delta (α2Δ2) (*CACNA2D2*) y la subunidad auxiliar beta2 (β2) (*CACNB2*). Para generar la línea celular, se establecieron los vectores de expresión *pcDNA5.0/FRT-TO-CACNA2D2-FCS-P2A-CACNB2* y *pCMV6-entrada-CACNA1C* mediante síntesis génica y clonación. En este caso, el plásmido pcDNA5.0/FRT-TO es de Invitrogen, pCMV6-entrada es de Origene, FCS significa, por sus siglas en inglés, sitio de escisión de furina, P2A es una secuencia peptídica autoescindible derivada de tescovirus 1 porcino y FRT es el sitio diana de reconocimiento de flipasas. A continuación, la línea progenitora Flp-In™ 293 T-Rex (Invitrogen) se transfectó con *pcDNA5.0/FRT-TO-CACNA2D2-FCS-P2A-CACNB2* y el vector de flipasa pOG44 (Invitrogen) para establecer la integración diana del casete de expresión *CACNA2D2-FCS-P2A-CACNB2* en el sitio FRT modificado previamente en Flp-In™ 293 T-Rex. A continuación, esta línea celular intermedia se transfectó con *pCMV6-entrada-CACNA1C* para establecer la expresión estable de CACNA1C. Se consiguió el aislamiento clonal con una selección de neomicina. Se seleccionó un clon celular (2-19B) con una buena corriente de bario dependiente del voltaje (véanse los métodos electrofisiológicos más adelante) para la caracterización de los activadores de $Ca_V1.2$.

[0362] Para mantener la línea celular, las células se sometieron a pasaje dos veces a la semana. En cada pasaje, los medios de crecimiento (Tabla 1) se eliminaron completamente y las células se lavaron secuencialmente con 10 mL de D-PBS y 5 mL de enzima TrypLE™ Express caliente (Gibco). Después del lavado, se eliminaron inmediatamente tanto D-PBS como la enzima TrypLE™ Express. A continuación, las placas se sometieron a temperatura ambiente durante 3-5 minutos. A continuación, se añadieron 10 mL de medio completo caliente a 37 °C para lavar la superficie de crecimiento de las células y se recolectaron las células disociadas. Las células se contaron y se sembraron en frascos nuevos, con una densidad diana de $2\text{-}3\times10^6$ células por cada frasco T175 cm^2.

Tabla 1. Medio de crecimiento para células HEK293-$Ca_V1.2$(AUX)

Reactivo	Concentración
DMEM	
Suero bovino fetal desactivado por calentamiento	10 %
Higromicina B	100 ug/mL
Blasticidina	10 ug/mL
Geneticina (G418)	200 ug/mL

Caracterización electrofisiológica de los activadores de Cav1.2 utilizando la línea celular Cav1.2-HEK293(AUX) y QPatch

[0363] 24 horas antes de un experimento electrofisiológico, se añadió doxiciclina (1 µg/mL) al medio de crecimiento (Tabla 1) y se aplicó conjuntamente verapamilo 25 µM para evitar la muerte celular provocada por la entrada de calcio. La confluencia celular debe alcanzar un 70 %-80 % justo antes del experimento.

[0364] Para recolectar las células (de un frasco T175 cm^2 como ejemplo), los medios de crecimiento se eliminaron completamente y las células se lavaron con 10 mL de D-PBS. Se aspiró D-PBS, se añadieron 10 mL de Detachin (Genlantis) y la placa se colocó en una incubadora a 37 °C durante 10 minutos. Las células desprendidas se colocaron en un tubo cónico de 15 mL y se centrifugaron a 1000 rpm durante 2 minutos. Se eliminó el sobrenadante y las células se suspendieron de nuevo en medios completos QPatch (Tabla 2) hasta obtener la densidad celular deseada de 1,5-3 millones de células por cada análisis QPatch. Cada análisis experimental utiliza 1,5 mL de células.

[0365] La suspensión celular se transfirió a la plataforma QPatch de Sophion que utiliza un pinzamiento de voltaje de células enteras para medir las corrientes de bario conducidas a través de Cav1.2 en QPlates de un solo orificio. Las soluciones extracelulares e intracelulares de pinzamiento zonal se describen en las Tablas 3 y 4, respectivamente. Se utilizó un protocolo de ensayo de dosis-respuesta para determinar el factor de cambio máximo de la corriente de entrada máxima (Emáx) y la potencia (CE_{50}) de cada compuesto. El protocolo tuvo ocho períodos líquidos. El primer período líquido fue para estabilizar la amplitud de corriente, la cual se monitorizó utilizando pulsos de voltaje repetitivos de 200 ms que pasaron de -80 mV a 0 mV. El segundo período líquido fue para determinar la amplitud de corriente basal en presencia de control de vehículo, utilizando un solo pulso de voltaje de 20 ms que pasó de -80 mV a 0 mV. Los períodos líquidos del tercero al octavo se utilizaron para determinar una respuesta de 6 dosis a los tratamientos con el compuesto, utilizando también pulsos de voltaje únicos de 20 ms que pasaron de -80 mV a 0 mV. La CE_{50} se generó utilizando la siguiente ecuación $I_{concentración} = I_{base} + (I_{total} - I_{base})*c^n/(XC_{50}^n + c^n)$, donde c es la concentración y n es la constante del coeficiente de Hill. I_{total} es la corriente máxima que se puede conseguir e I_{base} es 0. Se utilizó un protocolo de ensayo biofísico de canales para determinar las propiedades de activación del canal, que incluían la correlación de corriente-voltaje (curvas IV), el voltaje de activación del canal medio ($V_{1/2}$), la velocidad de desactivación del canal (tau) y la amplitud de la corriente de cola. Entre estos, $V_{1/2}$ se obtuvo a partir de la ecuación de ajuste $G(V)=G_{Vmín}+(G_{Vmáx}-G_{Vmín})/(1+\exp(-(V-V1/2)/V_{pendiente}))$, donde G se refiere a la conductancia, $G_{Vmín}$ es igual a 0, $G_{Vmáx}$ es la conductancia máxima y $V_{pendiente}$ es un factor de la pendiente. G(V) se calculó previamente a partir de la ecuación G(V)=I(V)/(V-0,06), para cada potencial de despolarización aplicado experimentalmente (V) y la amplitud de corriente correspondiente (I(V)), y 0,06 en la ecuación fue el potencial de inversión determinado experimentalmente en voltios. El protocolo tuvo cuatro períodos líquidos. El primer período líquido fue para estabilizar la amplitud de corriente, la cual se monitorizó utilizando pulsos de voltaje repetitivos de 200 ms que pasaron de -80 mV a 0 mV. Tras la estabilización de la amplitud de corriente, se determinó un valor basal para la tau de desactivación, mediante un ajuste único exponencial de la fase de desactivación de la curva de corriente. El segundo período líquido fue para medir los valores basales que constituyen la correlación de corriente-voltaje en presencia del control de vehículo, y el tercer período líquido fue para medir el efecto del compuesto sobre la correlación de corriente-voltaje. Durante cada uno de estos dos períodos líquidos, las células recibieron diez pulsos de voltaje de 20 ms, cada uno de los cuales pasó de -80 mV a un valor incremental que oscila entre -55 mV y +35 mV (tamaño de incremento de 10 mV). Durante el cuarto período líquido, se suministro de nuevo un pulso de voltaje de 200 ms de -80mV a 0 mV para medir el efecto del compuesto sobre la tau de desactivación.

Tabla 2. Medios completos de QPatch:

Reactivo	**Concentración**
CHO-medios exentos de suero (SFM)	
HEPES 1 M	25 mM

Tabla 3. Solución extracelular para experimentos de QPatch

Producto químico	**Concentración (mM)**
Cloruro de sodio	145
Cloruro de bario	10
Cloruro de potasio	4
HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfónico)	10
HEPES	10
pH hasta 7,4 con NaOH para una osmolaridad final de ~315 mOsm, filtrar la solución a través de un filtro de 0,2 µm.	

Tabla 4. Solución intracelular para experimentos de QPatch. La solución es una mezcla de un 80 % de la parte dos (almacenada a -80 °C) y un 20 % de la parte uno:

Parte uno:	
Producto químico	**Concentración (mM)**
Fluoruro de cesio	135
HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfónico)	10
Cloruro de sodio	10
EGTA (ácido etilenglicol-bis(2-aminoetileter)-N,N,N',N'-tetraacético)	1
pH hasta 7,2 con CsOH para una osmolaridad final de ~295 mOsm, filtrar la solución a través de un filtro de 0,2 µm.	

Parte dos:

[0366]

Producto químico	Concentración (mM)
Cloruro de cesio	140
EGTA (ácido etilenglicol-bis(2-aminoetileter)-N,N,N',N'-tetraacético)	10
HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfónico)	10
Sal de magnesio del 5'-trifosfato de adenosina	5
pH hasta 7,2 con KOH para una osmolaridad final de ~295 mOsm, filtrar la solución a través de un filtro de 0,2 µm.	

Evaluación de la exposición al compuesto - correlación de la inducción de cFos (PK-PD) en ratones de tipo natural

[0367] Mantenimiento y ética de los animales. Todos los animales fueron alojados con una temperatura y un ciclo de luz adecuados (22 °C, ciclo de 12 horas de luz / 12 horas de oscuridad) con acceso sin restricciones a alimentos y agua. Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con las directrices institucionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio aprobadas por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (IACUC) de los Institutos Novartis para la Investigación Biomédica, Inc. (Cambridge, MA, EE.UU.).

[0368] Administración de compuestos y recolección de tejido cerebral. Se obtuvieron ratones macho de tipo natural C57BL/6J en Jackson laboratories (Bar Harbor, ME). Los efectos inmediatos de una dosis única de los activadores de Cav1.2 de la presente divulgación se evaluaron en ratones macho de ocho semanas de edad (n = 6 ratones por compuesto). Cada compuesto se disolvió en un 10 % de PEG300, 10 % de Solutol, 10 % de Cremophor EL y 70 % de solución salina tamponada con fosfato y se administró por vía intraperitoneal (i.p.) con una concentración de 1 mg/kg hasta 30 mg/kg dependiendo del compuesto. Los animales se sometieron a eutanasia una hora después de la administración del compuesto mediante desangramiento bajo anestesia profunda. Se recolectó sangre en tubos de EDTA para el análisis posterior de los niveles de fármaco. Los cerebros se extrajeron rápidamente del cráneo, y la corteza cerebral y el cerebelo se disecaron regionalmente. Las muestras del cerebelo se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido para evaluar la exposición al compuesto. Las muestras corticales para la evaluación de cFos se colocaron en 500 µL de solución de RNAlater (ThermoFisher) para conservar la integridad del ARN en la muestra. Las muestras permanecieron en RNAlater durante al menos 24 horas a 4 °C antes de someterlas a -80 °C para su almacenamiento antes del procesamiento.

[0369] Cuantificación de la inducción del ARNm de cFos. Se llevó a cabo una homogenización del tejido utilizando el sistema TissueLyser para placas de 96 pocillos (Qiagen). En primer lugar, las muestras corticales congeladas se descongelaron, se separaron de RNAlater y se colocaron en tubos TissueLyser junto con tampón RLT que contenía un 0,5 % de reactivo DX y una microesfera metálica TissueLyser de 5 mm. Los tubos TissueLyser se introdujeron en un homogeneizador de tejido TissueLyser II para realizar 3 rondas de homogeneización, con una duración de 5 minutos para cada ronda con una frecuencia de agitación con perlas de 30 Hz. El ARN total se purificó a partir del homogenato utilizando el kit RNeasy 96 Plus (Qiagen), la concentración de ARN y la relación de A260/A280 se cuantificaron mediante Nanodrop (ThermoFisher), y todas las muestras se normalizaron respecto a una concentración de 100 ng/µL. El ARN se sometió a transcripción inversa para obtener ADNc utilizando el kit de SuperMix de síntesis de la primera hebra Superscript III (ThermoFisher). Para cada muestra, se mezclaron 6 µL de ARN (600 ng en total) con 1 µL de Oligo DT y 1 µL de tampón de hibridación y se calentaron hasta 65 °C durante 5 minutos. A continuación, se añadieron 10 µL de 2X mezcla de reacción de la primera hebra y 2 µL de la mezcla de enzimas para conseguir un volumen de reacción total de 20 µL. Las muestras se calentaron hasta 50 °C durante 50 minutos y a continuación a 85 °C durante 5 minutos para completar la síntesis de ADNc.

[0370] Se llevó a cabo una PCR cuantitativa en las muestras de ADNc utilizando el kit para RT-PCR Multiplex Quantitect (Qiagen) en un formato de ensayo de 384 pocillos. Cada pocillo de PCR contenía 2 µL de ADNc (60 ng en total), 10µL de mezcla maestra para RT-PCR, 1 µL de sonda para cFos FAM Taqman (Mm00487425_m1 (FAM) #4351368), 1 µL de sonda para GAPDH VIC Taqman (Mm99999915-g1 (VIC) #4448486), 0,2 µL de mezcla Multiplex RT y 5,8 µL de agua exenta de RNasa. En el sistema de PCR a tiempo real ViiA7 (ThermoFisher), las muestras se calentaron hasta 95 °C durante 15 minutos, a continuación se sometieron a 45 ciclos entre 94 °C durante 45 segundos y 60 °C durante 45 segundos. Los valores de Ct para cFos se exportaron, se normalizaron respecto a los valores de Ct para GAPDH y se convirtieron en el factor de cambio relativo en la expresión utilizando el método de cuantificación relativa de Ct delta-delta. Los factores de cambio de cFos entre los tratamientos con

el compuesto y el vehículo se analizaron mediante ANOVA de una vía, seguida de comparaciones post-hoc de Tukey.

[0371] Cuantificación de la exposición a los compuestos. Las muestras de tejido del cerebelo se homogeneizaron en 4 mL de 20 % de acetonitrilo y 80 % de solución salina tamponada con fosfato por cada 1 g de tejido (dilución 5x). El tejido se homogeneizó utilizando cualquiera de los tres métodos siguientes: sistema de sonda manual, sistema TissueLyser con microesfera de acero de 5 mm a una frecuencia de 30 s^{-1} durante 4 min, u homogeneizador OMNI Bead Ruptor Elite durante de 30 segundos a 1 minuto dependiendo del tipo de tejido. Las muestras de tejido se añadieron a una placa de 96 pocillos (muestra de 12,5 µL) y se procesaron para la cuantificación mediante espectrometría de masas.

Resultados

[0372]

Tabla 5. Datos de los compuestos

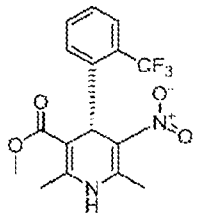
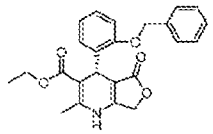
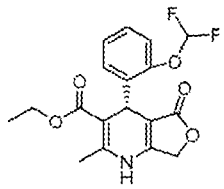
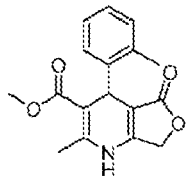
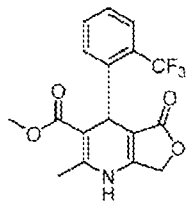
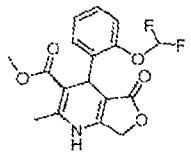
Ejemplo	CE50 para QPatch (µM)	Emáx para QPatch	Biofísica, cambio de voltaje (mV)	Relación de cerebro: sangre	% ↑ de ARNm de cFOS en la corteza cerebral (3 mg/kg ip)	% ↑ de ARNm de cFOS en la corteza cerebral (10mg/kg ip)
1	0,13#	2,0	-4,5	1,1	169%	350%
2	0,17*	1,6	-1,9	3,4	23%	203%
3	0,08	1,8	-6,6	nd	nd	nd
4	0,11*	2,1	-4,5	1,2	247%	398%
5	0,053	2,5	-7,2	nd	nd	nd
6	0,081	2,6	-4,8	nd	nd	nd
7	0,03	1,7	-6,6	1,7	158%	nd
8	0,218	1,6	nd	nd	nd	nd
9	0,13	1,5	-6,6	2,3	112%	nd
10	0,04	2,2	nd	0,9	204%	nd
11	0,04	1,4	-6,8	nd	nd	nd
12	0,11	1,4	-7,4	0,8	128%	nd
13	0,22	1,5	-4,8	1,0	165%	281%
14	0,065*	1,8	-1,9	1,7	228%	364%
15	0,05	2	-6,6	1,3	169%	nd
16	0,004	1,5	-3,3	0,6	121%	nd
17	0,271	1,8	-6,6	nd	nd	nd
18	0,102	2,2	-6,5	nd	nd	nd
19	0,012	1,7	-1,8	2,9	138%	nd
20	0,086	1,6	-6,1	nd	nd	nd

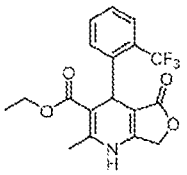
QPatch se llevó a cabo como una respuesta a la dosis de 6 puntos con 10 determinaciones individuales en cada concentración. A menos que se indique otra cosa, solo se realizó una réplica experimental (n=1)
* n=2
# n=3
nd = no determinado

Ejemplos comparativos

[0373] Se conocen otros activadores de Cav1.2, sin embargo estos compuestos no son tan potentes y/o no tienen las propiedades biofísicas deseadas necesarias para activar el canal y tener suficiente exposición en el cerebro, a la vez que se minimicen los riesgos cardiovasculares, tales como aumento de la presión arterial, alteración de la frecuencia cardíaca o contractilidad, y/o arritmia, debidos a la prolongación de QT.

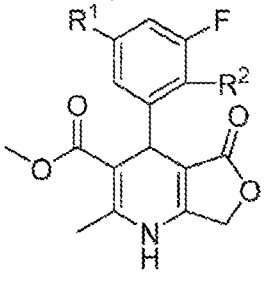
Tabla 6. Ejemplos comparativos de otros activadores de CaV1.2 conocidos

Nombre de la estructura	**CE50 para QPatch (µM)**	**Emáx para QPatch**	**Biofísica, cambio de voltaje (mV)**	**Relación de cerebro: sangre**
Activadores de los canales del calcio descritos (enantiómeros individuales de los racematos descritos) que muestran varios perfiles de Qpatch (Emáx y cambio de V)				
	0,021	3,9	-10,11	No determinado
(BayK8644)				
	0,45	4,3	-15,4	No determinado
(RS30124)				
	0,28	2,2	-6,7	0,23
(CGP028392)				
	2,24	1,4	No determinado	No determinado
n.º de CAS: 85825-32-7				
	0,36	1,4	-4,3	No determinado
n.º de CAS: 85825-31-6				
	0,51	1,7	-7,1	No determinado

Nombre de la estructura	**CE50 para QPatch (µM)**	**Emáx para QPatch**	**Biofísica, cambio de voltaje (mV)**	**Relación de cerebro: sangre**
Activadores de los canales del calcio descritos (enantiómeros individuales de los racematos descritos) que muestran varios perfiles de Qpatch (Emáx y cambio de V)				
n.º de CAS: 92638-18-1				
	0,93	1,9	No determinado	No determinado

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este



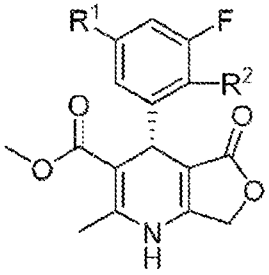
(I)

en donde:

R^1 es H o halo; y

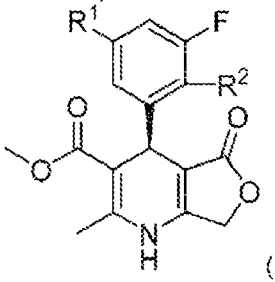
R^2 es etilo, isopropilo, isopropenilo, ciclopropilo o ciclobutilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de uno a tres halo.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable de este,



(Ia).

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de fórmula (Ib) o una sal farmacéuticamente aceptable de este



(Ib).

4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde R^1 es H o F.

5. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde R^1 es H.

6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde R^1 es F.

7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde R^2 es etilo, isopropilo, isopropenilo, ciclopropilo o ciclobutilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

8. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde R^2 es ciclopropilo opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

9. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde R^2 es etilo opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

10. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde R^2 es isopropilo opcionalmente sustituido con de uno a tres F.

11. El compuesto de acuerdo la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

(S)-4-(2-((R)-2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;

(S)-4-(2-((S)-2,2-difluorociclopropil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-ciclobutil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-ciclopropil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((R)-2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((S)-2,2-difluorociclopropil)-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-((S)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-((R)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-(2-fluoropropan-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-(2,2,2-trifluoroetilo)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-((S)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-((R)-1-fluoroetil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((R)-1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-((S)-1,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-etil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-etil-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-ciclopropil-3,5-difluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3-fluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(2-(2,2-difluoroetil)-3-fluorofenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-isopropilfenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo;
(S)-4-(3,5-difluoro-2-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo; y
(S)-4-(3-fluoro-2-(3-fluorociclobutil)fenil)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carboxilato de metilo o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para su uso en el tratamiento de esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, trastorno relacionado con el uso de sustancias, TDAH, síndrome de Phelan McDermid, trastorno de espectro autista, esclerosis múltiple, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto o síndrome de repolarización temprana.

DIBUJOS

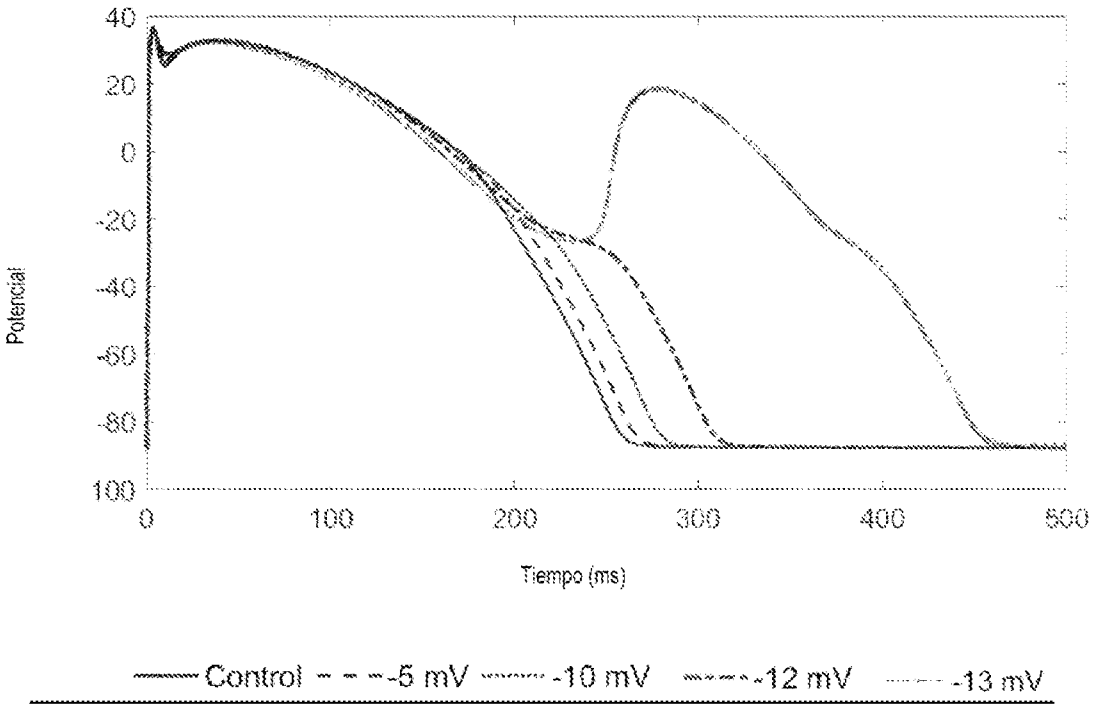


FIG. 1

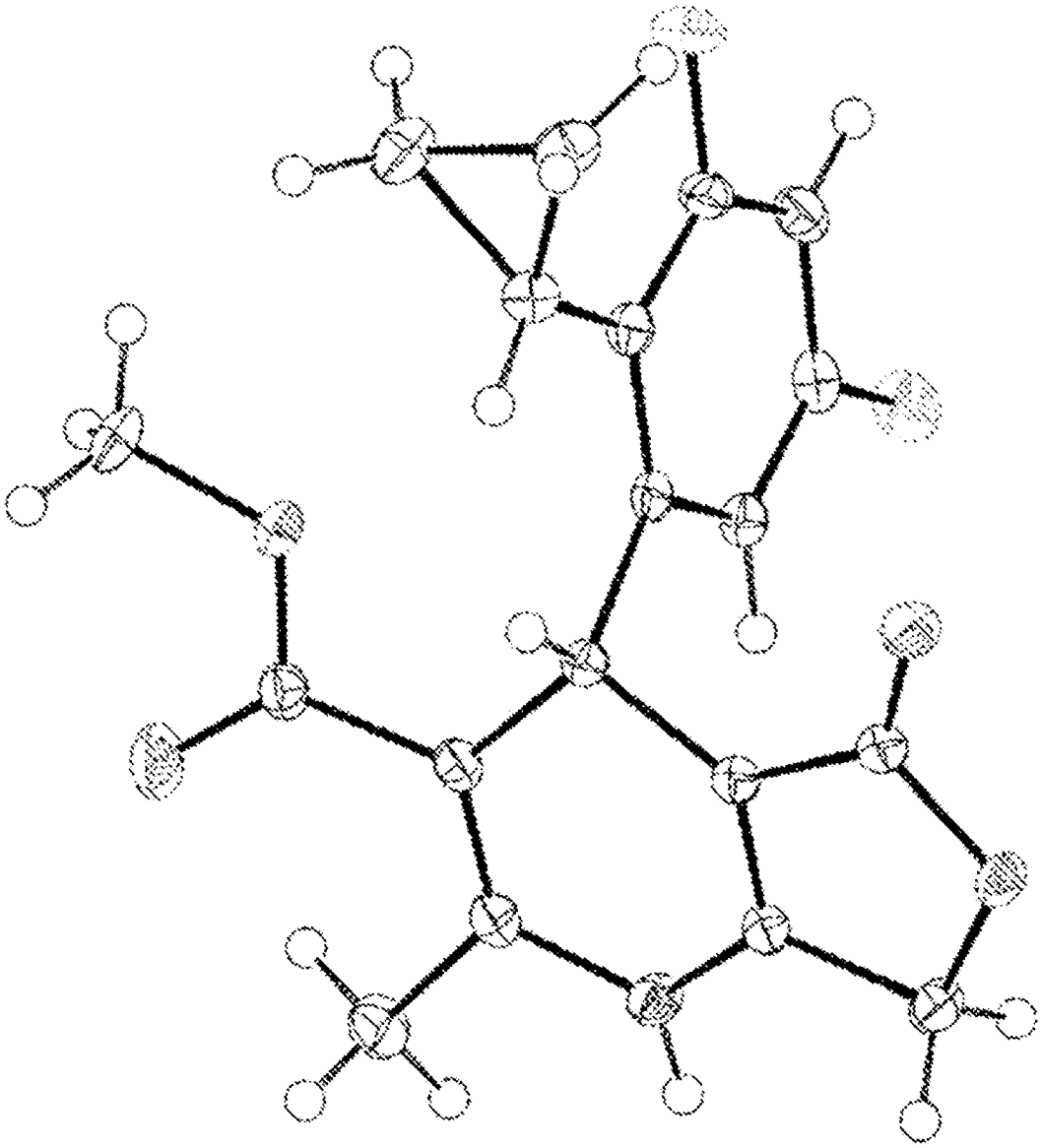


FIG. 2