



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 334 374**

51 Int. Cl.:
A61K 31/45 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05846549 .3**
96 Fecha de presentación : **22.11.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1817033**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.08.2007**

54 Título: **Tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.**

30 Prioridad: **29.11.2004 US 999451**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.03.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.03.2010

73 Titular/es: **ALLERGAN, Inc.**
2525 Dupont Drive
Irvine, California 92612, US

72 Inventor/es: **Old, David, W.;**
Dinh, Danny, T.;
Kedzie, Karen, M.;
Gil, Daniel, W. y
Im, Wha, Bin

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

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

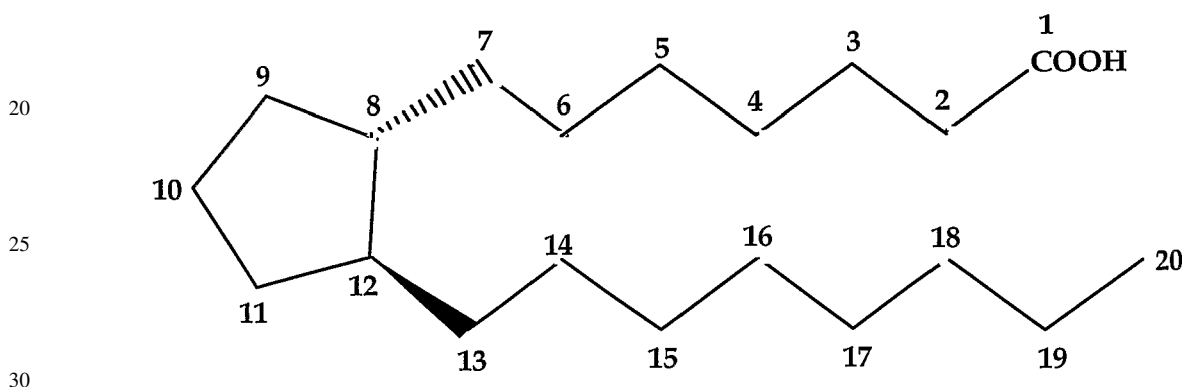
Tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a análogos de piperidinil prostaglandina E útiles como agentes terapéuticos, por ejemplo, para usar en un procedimiento de tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

10 **Antecedentes de la invención****Descripción de la técnica relacionada**

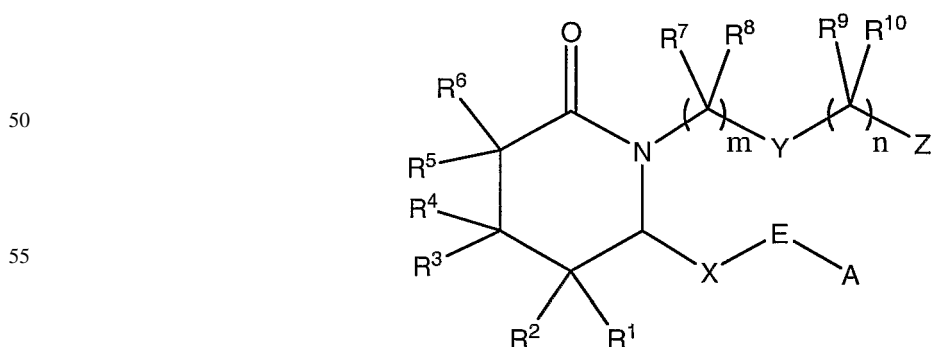
15 Las prostaglandinas pueden describirse como derivados del ácido prostanoico que tiene la siguiente fórmula estructural:



Se conocen diversos tipos de prostaglandinas, dependiendo de la estructura y los sustituyentes existentes en el anillo alicíclico del esqueleto del ácido prostanoico. Otra clasificación se basa en el número de enlaces insaturados en la cadena secundaria, indicado por los subíndices numéricos después del tipo genérico de prostaglandina [por ejemplo, prostaglandina E₁ (PGE₁), prostaglandina E₂ (PGE₂)], y en la configuración de los sustituyentes en el anillo alicíclico indicada por α o β [por ejemplo, prostaglandina F_{2 α} (PGF_{2 β})].

Las prostaglandinas son útiles para el tratamiento médico a largo plazo de glaucoma (véase, por ejemplo, Bito, L. Z. *Biological Protection with Prostaglandins*, Cohen, M. M., ed., Boca Raton, Fla, CRC Press Inc., 1985, pág. 231-252; y Bito, L. Z., *Applied Pharmacology in the Medical Treatment of Glaucomas* Drance, S. M. y Neufeld, A.H. eds., Nueva York, Grune & Stratton, 1984, pág. 477-505. Dichas prostaglandinas incluyen PGF_{2 α} , PGF_{1 α} , PGE₂, y ciertos ésteres liposolubles, tales como ésteres de alquilo C₁ a C₂, por ejemplo, éster 1-isopropílico, de dichos compuestos.

La Publicación de Patente de Estados Unidos 2004/0142969 A1 describe compuestos de acuerdo con la fórmula a continuación



describiendo la solicitud la identidad de los grupos de la siguiente manera.

m es de 1 a 4; n es de 0 a 4; A es alquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilcicloalquilo, cicloalquilalquilo, o ariloxialquilo; E es -CHOH- o -C(O)-; X es -(CH₂)₂- o -CH=CH-; Y es -CH₂-, arileno, heteroarileno, -CH=CH-, -O-, -S(O)_p- donde p es de 0 a 2, o -NR^a- donde R^a es hidrógeno o alquilo;

Z es -CH₂OH, -CHO, tetrazol-5-ilo, o -COOR^b donde R^b es hidrógeno o alquilo; y cada R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ es independientemente hidrógeno o alquilo.

El documento WO2004085430 describe compuestos similares a los de la Publicación de Patente de Estados Unidos 2004/0142969 A1, así como otros de interés.

También se describen compuestos similares en el documento WO 2004/063158 A1 donde se usan como agonistas selectivos de prostaglandina EP4 para el tratamiento de trastornos óseos tales como osteoporosis. Los documentos WO 2005/072735 A1 y WO 2005/121086 A2 describen otros derivados de piperidinil prostaglandina E que tienen diferentes heteroátomos en sus cadenas α . Los derivados de prostaglandina descritos en estos documentos pueden ser útiles para tratar la hipertensión ocular y el glaucoma, respectivamente.

La enfermedad inflamatoria del intestino (EII) es un grupo de enfermedades que se caracteriza por la inflamación del intestino grueso o delgado y se manifiesta por síntomas tales como diarrea, dolor y pérdida de peso. Se ha demostrado que los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos están asociados con el riesgo de desarrollar EII, y recientemente Kabashima y colaboradores han descrito que "EP4 trabaja para mantener la integridad de la mucosa, para suprimir la inmunidad innata, y para regular negativamente la proliferación y activación de los linfocitos CD4+ T. Estos hallazgos no solo han aclarado los mecanismos de EII mediante los AINE, sino que también han indicado el potencial terapéutico de los agonistas selectivos de EP4 en la prevención y tratamiento de EII". (Kabashima, *et al.*, The Journal of Clinical Investigation, abril de 2002, Vol. 9, 883-893)

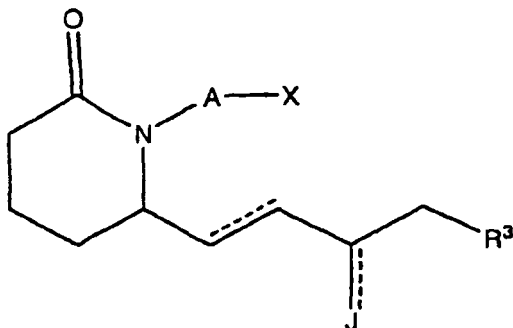
Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una Tabla que muestra los resultados del ensayo *in vitro* para compuestos preparados como se describe en el presente documento.

Descripción detallada de la invención

La enfermedad inflamatoria del intestino describe diversas enfermedades caracterizadas por la inflamación de los intestinos incluyendo, aunque sin limitación, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. El tratamiento puede realizarse por administración oral, mediante supositorio, o por administración parenteral, o algún otro procedimiento adecuado.

En el presente documento se describen medicamentos para usar en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula:

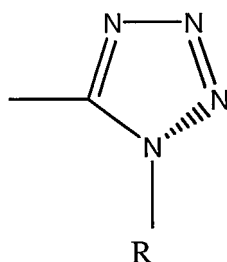


o una sal o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo;

en la que la línea de puntos representa la presencia o ausencia de un doble enlace;

A es $-(CH_2)_6-$,

X es CO_2R , $CONR_2$, CH_2OR , $P(O)(OR)_2$, $CONRSO_2R$, SO_2NR_2 o

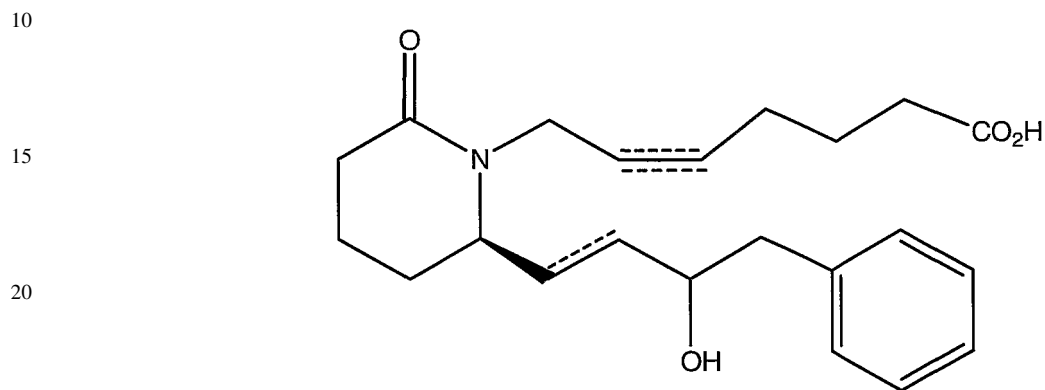


J es-OH;

R es H o R²;

5 R² es alquilo inferior C₁-C₅ o alquenilo y R³ es fenilo o derivados sustituidos del mismo, en las que los sustituyentes pueden seleccionarse entre el grupo constituido por alquilo C₁-C₅, halógeno, CF₃, CN, NO₂, NR₂, CO₂R y OR.

Otros compuestos útiles incluyen aquellos que tienen una cadena α y ω que comprenden

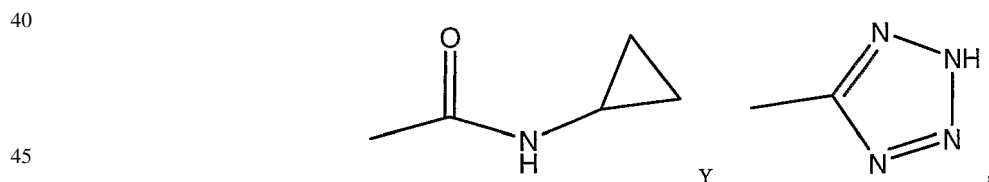


o derivados del mismo,

30 en el que las líneas de puntos indican la presencia o ausencia de un enlace, el triángulo representa la configuración β , y teniendo dicho derivado una estructura como la mostrada anteriormente excepto que se hacen de 1 a 2 modificaciones en la cadena α y/o la cadena ω , consistiendo una modificación en

a. añadir, retirar o sustituir un átomo distinto de hidrógeno,

35 b. convertir un CO₂H en un resto seleccionado entre el grupo constituido por CONMe₂, CONHMe, CONHEt, CON(OCH₃)CH₃, CONH₂, CON(CH₂CH₂OH)₂, CONH(CH₂CH₂OH), CH₂OH, P(O)(OH)₂, CONHSO₂CH₃, SO₂NH₂, SO₂N(CH₃)₂, SO₂NH(CH₃).



c. añadir un sustituyente que comprende de 1 a 3 átomos distintos de hidrógeno a un anillo aromático;

50 o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otro aspecto más, la presente invención se refiere a un producto farmacéutico, que comprende

55 un recipiente adaptado para dosificar sus contenidos en una forma medida; y

una solución oftálmica en su interior, como se ha definido anteriormente en el presente documento.

60 Finalmente, algunos de los compuestos representados por las fórmulas anteriores, que se describen a continuación y se utilizan en el procedimiento de la presente invención, son nuevos y no obvios.

65 Una "sal farmacéuticamente aceptable" es cualquier sal que mantenga la actividad del compuesto precursor y que no confiera ningún efecto perjudicial o adverso adicional al sujeto al que se le administra y en el contexto en el que se administra comparada con el compuesto precursor. Una sal farmacéuticamente aceptable se refiere también a cualquier sal que pueda formarse *in vivo*, como resultado de la administración de un ácido, otra sal, o un profármaco que se convierte en un ácido o una sal.

Las sales farmacéuticamente aceptables de grupos funcionales ácidos pueden proceder de bases orgánicas o inorgánicas. La sal puede comprender un mono-ión o un ión polivalente. Son de particular interés los iones inorgánicos, litio, sodio, potasio, calcio, y magnesio. Las sales orgánicas pueden prepararse con aminas, particularmente las sales de amonio tales como mono-, di- y trialquil aminas o etanol aminas. Las sales pueden formarse también con cafeína, trometamina y moléculas similares. El ácido clorhídrico o algún otro ácido farmacéuticamente aceptable puede formar una sal con un compuesto que incluye un grupo básico, tal como una amina o un anillo de piridina.

Un "profármaco" es un compuesto que se convierte en un compuesto terapéuticamente activo después de la administración, y el término debería interpretarse en el presente documento de forma tan amplia como se entiende generalmente en la técnica. Sin pretender limitar el alcance de la invención, la conversión puede ocurrir por hidrólisis de un grupo éster o algún otro grupo biológicamente inestable. Generalmente, aunque no necesariamente, un profármaco es inactivo o menos activo que el compuesto terapéuticamente activo en el que se convierte. Se contemplan específicamente los profármacos de éster de los compuestos descritos en el presente documento. Sin pretender limitar, un éster puede ser un éster de alquilo, un éster de arilo, o un éster de heteroarilo. El término alquilo tiene el significado que entienden generalmente los especialistas en la técnica y se refiere a restos alquilo lineales, ramificados o cíclicos. Los ésteres de alquilo C_{1-6} son particularmente útiles cuando la parte alquilo del éster tiene de 1 a 6 átomos de carbono e incluye, aunque sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, t-butilo, isómeros de pentilo, isómeros de hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y combinaciones de los mismos que tienen de 1-6 átomos de carbono, etc.

Los compuestos anteriores de la presente invención pueden prepararse por procedimientos que se conocen en la técnica o de acuerdo con los ejemplos de trabajo a continuación. Los compuestos, a continuación, son especialmente representativos preferidos de los compuestos de la presente invención.

Éster metílico del ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

Ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

Éster metílico del ácido 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

Ácido 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

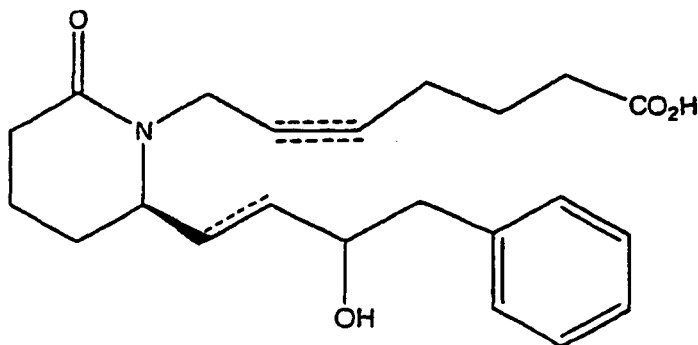
Éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-Hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Amida del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-Hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Ester isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (diastereómero que eluye más rápido por HPLC)

Ester isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (diastereómero que eluye más lento por HPLC).

Una realización comprende derivados de



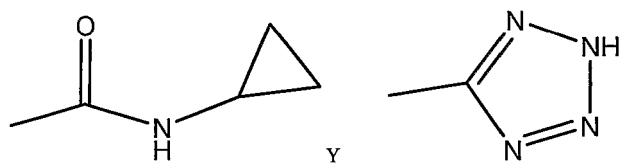
o un derivado del mismo,

en el que las líneas de puntos indican la presencia o ausencia de un enlace, y teniendo dicho derivado una estructura como la mostrada anteriormente excepto que se hacen de 1 a 2 modificaciones en la cadena α y/o la cadena ω , consistiendo una modificación en

ES 2 334 374 T3

a. añadir, retirar o sustituir un átomo distinto de hidrógeno,

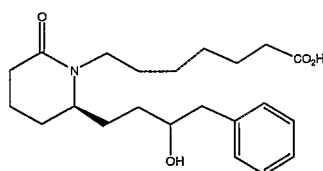
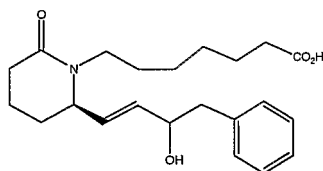
b. convertir un CO_2H en un resto seleccionado entre el grupo constituido por CONMe_2 , CONHMe , CONHEt , $\text{CON}(\text{OCH}_3)\text{CH}_3$, CONH_2 , $\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$, $\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})$, CH_2OH , $\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$, $\text{CONHSO}_2\text{CH}_3$, SO_2NH_2 , $\text{SO}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{SO}_2\text{NH}(\text{CH}_3)$,



c. añadir un sustituyente que comprenda de 1 a 3 átomos distintos de hidrógeno a un anillo aromático.

Los compuestos reales representados en estas estructuras así como sus derivados como se definen en el presente documento se contemplan en estas realizaciones.

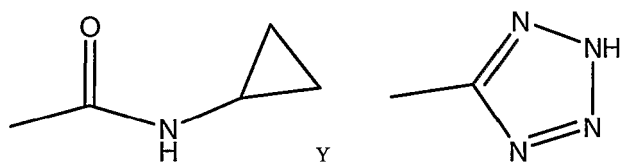
De esta manera, se contemplan los siguientes compuestos, así como sus derivados, que se describirán en detalle posteriormente en el presente documento.



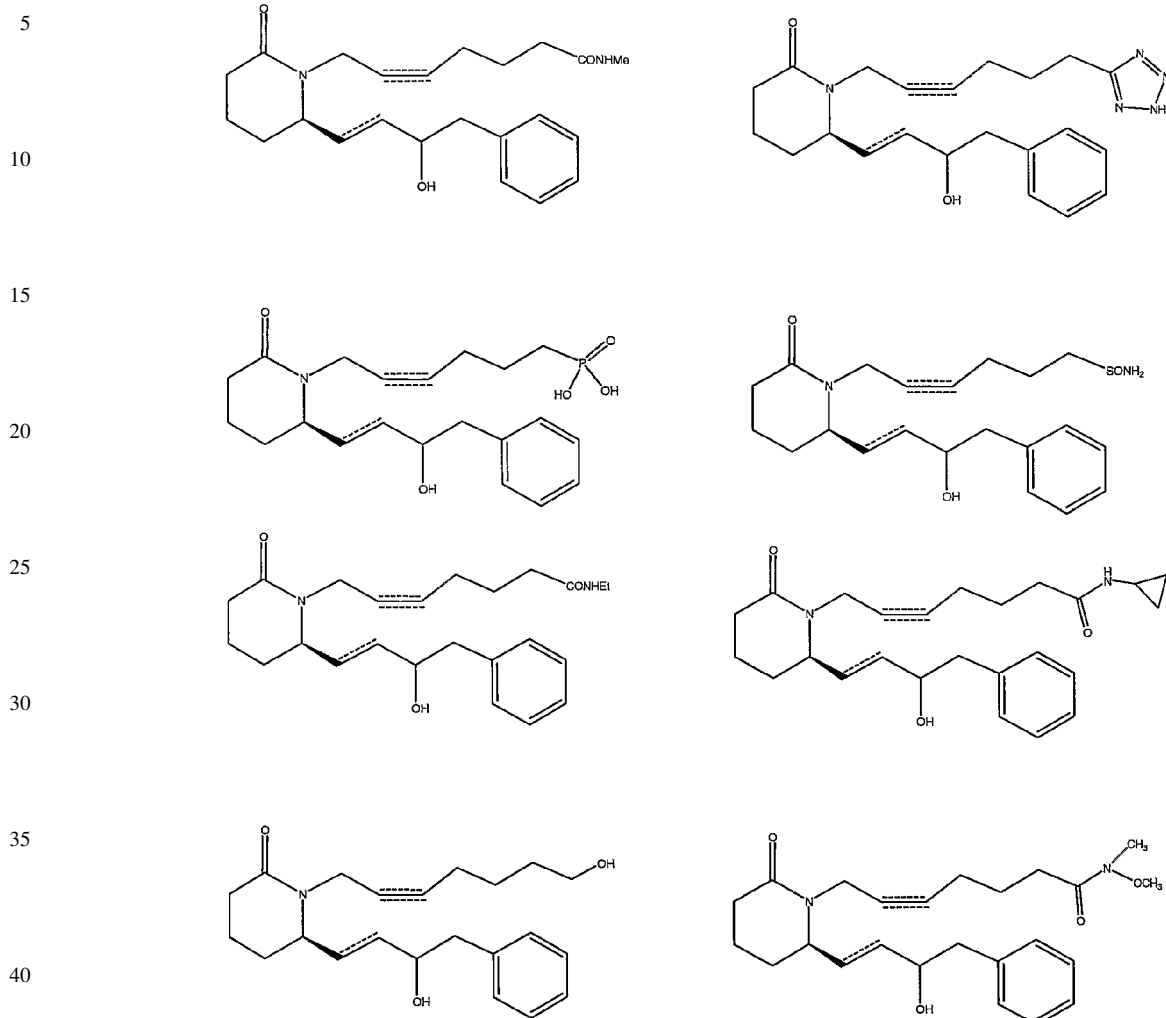
Se contemplan también las sales y profármacos de los compuestos representados en las estructuras así como las sales y profármacos de los derivados.

Al hacer referencia a un derivado y a las modificaciones en la estructura mostradas anteriormente, debe hacerse hincapié en que esta realización de modificaciones y formación de derivados es estrictamente un ejercicio mental usado para definir un conjunto de compuestos químicos, y no tiene nada que ver con si dicha modificación puede realizarse realmente en el laboratorio, o si un derivado puede prepararse mediante una de las modificaciones descritas. Sin embargo, tanto si el derivado puede prepararse como si no por cualquiera de las modificaciones mencionadas, las diferencias entre los derivados y la estructura mencionada anteriormente son tales que una persona especialista en la técnica podría preparar los derivados descritos en el presente documento usando procedimientos rutinarios conocidos en la técnica sin excesiva experimentación.

Una modificación incluye convertir un CO_2H en un resto seleccionado entre el grupo constituido por CONMe_2 , CONHMe , CONHEt , $\text{CON}(\text{OCH}_3)\text{CH}_3$, CONH_2 , $\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$, $\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})$, CH_2OH , $\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$, $\text{CONHSO}_2\text{CH}_3$, SO_2NH_2 , $\text{SO}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{SO}_2\text{NH}(\text{CH}_3)$,



tal como en los ejemplos a continuación.



45 También se contemplan las sales farmacéuticamente aceptables y profármacos de estos compuestos.

El grupo tetrazol,



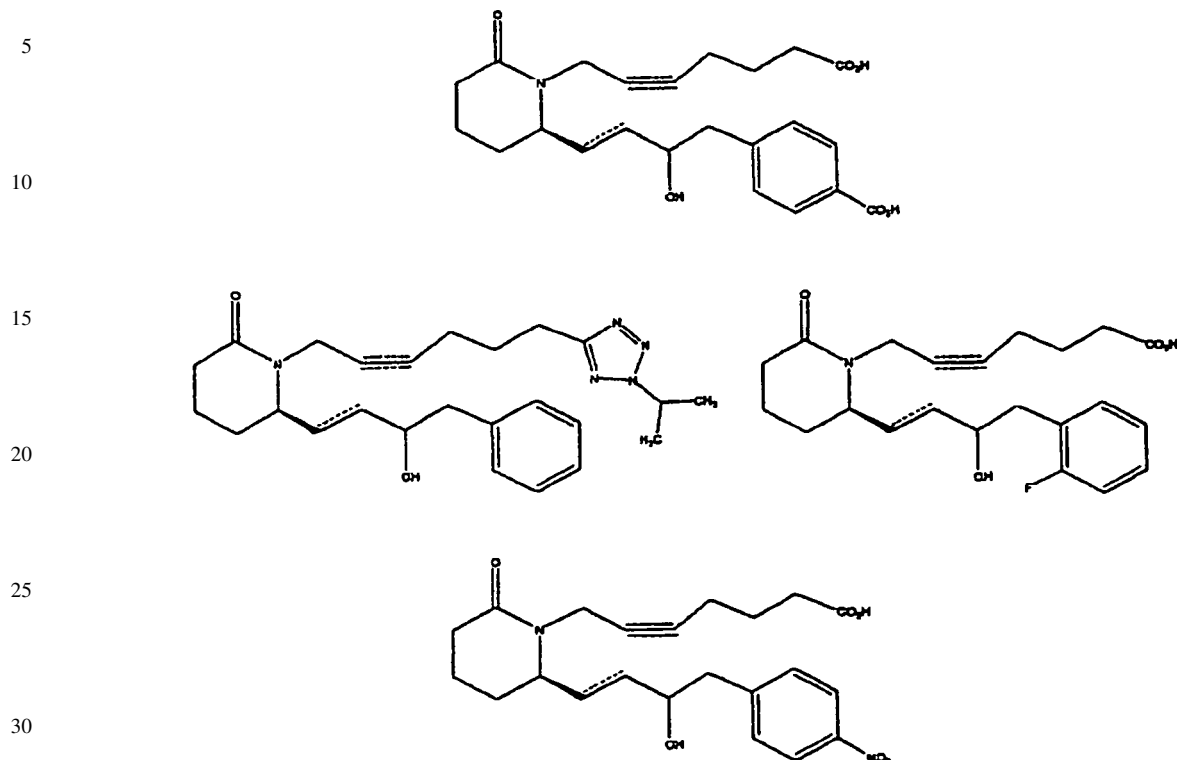
55 tiene dos formas tautoméricas, que pueden interconvertirse rápidamente en medios acuosos o biológicos y, por lo tanto, son equivalentes entre sí. El tautómero del tetrazol mostrado anteriormente se muestra continuación.



65 Para los fines descritos en el presente documento, todas las formas tautoméricas deberían considerarse equivalente de cualquier manera. Si el tetrazol tiene un sustituyente o alguna otra característica que rompa la simetría, pueden existir más de dos formas tautoméricas. Se considera también que éstas son equivalentes entre sí.

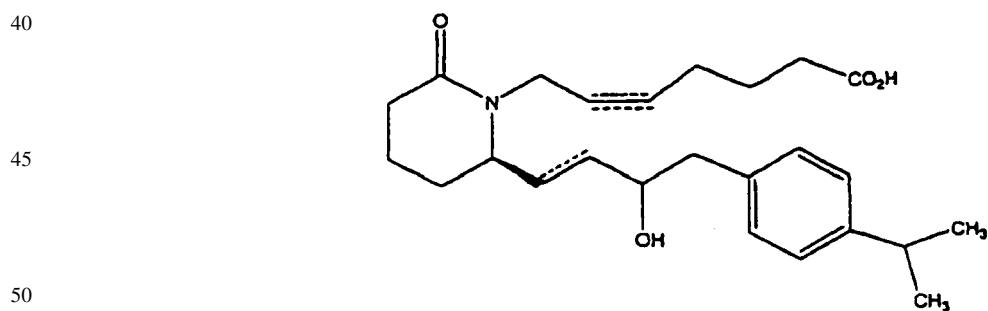
ES 2 334 374 T3

Otra modificación consiste en añadir un sustituyente que comprende de 1 a 3 átomos distintos de hidrógeno a un anillo aromático, como en los ejemplos a continuación.

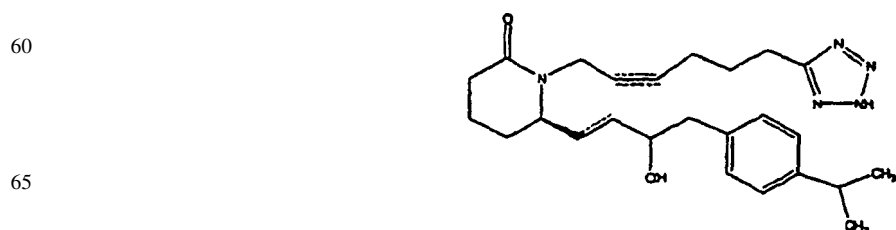


Se contemplan también las sales y profármacos farmacéuticamente aceptables de estos compuestos.

35 Si pudiera interpretarse razonablemente que un derivado constase de un número diferente de modificaciones, se considera el derivado que tenga el menor número razonable de modificaciones. Por ejemplo, el compuesto mostrado a continuación, que tiene la parte modificada de la molécula en negrita, podría interpretarse razonablemente que tiene 1 ó 2 modificaciones respecto a la estructura definida.



Según una línea de razonamiento, la primera modificación sería añadir un sustituyente etilo al anillo de fenilo. La segunda modificación sería añadir un átomo de carbono, con sus átomos de hidrógeno asociados, al sustituyente etilo. Según una segunda línea de razonamiento, el derivado se obtendría simplemente añadiendo un grupo isopropilo al anillo de fenilo. De acuerdo con la regla establecida anteriormente, el compuesto anterior se define como que tiene 1 modificación. De esta manera, podría hacerse una modificación adicional a la estructura para obtener el compuesto como el mostrado a continuación.



Se contemplan también las sales y profármacos farmacéuticamente aceptables de este compuesto.

La administración de los compuestos descritos en el presente documento al colon mediante formas farmacéuticas orales puede llevarse a cabo por cualquiera de los numerosos procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las recapitulaciones de Chourasia y Jain en J Pharm Pharmaceut Sci 6 (1): 33-66, 2003 y Shareef *et al.* (MPS Pharm Sci 2003; 5 (2) Artículo 17) describen numerosos procedimientos útiles. Estos procedimientos incluyen 1) administración de un profármaco, incluyendo un profármaco basado en azo o carbohidrato; 2) revestir o impregnar el fármaco con, o encapsular el fármaco en un polímero diseñado para la administración al colon, 3) administración de liberación prolongada del fármaco, 4) uso de un sistema bioadhesivo; y similares.

Aunque no se pretende ceñirse de ninguna manera a una teoría, se cree que la microflora intestinal es capaz de realizar la escisión reductora de un enlace azo dejando los dos átomos de nitrógeno en forma de grupos funcionales amina. El procedimiento con profármaco azo se ha usado para administrar ácido 5-aminosalicílico a seres humanos en ensayos clínicos para el tratamiento de la enfermedad del intestino irritable. Se cree también que las bacterias del tracto GI inferior tienen también enzimas que pueden digerir glucósidos, glucuronidas, ciclodextrinas, dextranos, y otros carbohidratos, y se ha demostrado que los profármacos de éster formados a partir de estos carbohidratos administran los fármacos activos precursores selectivamente al colon. Por ejemplo, estudios *in vivo* e *in vitro* en ratas y cobayas con profármacos de dexametasona, prednisolona, hidrocortisona, y fludrocortisona, sugieren que los conjugados de glucósido pueden ser útiles para la administración de esteroides al colon humano. Otros estudios *in vivo* han sugerido que glucuronida, ciclodextrina, y dextrano profármacos de fármacos anti-inflamatorios esteroideos o no esteroideos son útiles para la administración de estos fármacos al tracto GI inferior. Se ha demostrado que una amida de ácido salicílico y ácido glutámico es útil para la administración de ácido salicílico al colon de conejo y perro.

Los polímeros de carbohidrato tales como amilasa, arabinogalactano, quitosano, sulfato de condroitina, dextrano, goma guar, pectina, xilina, y similares, o polímeros que contienen un grupo azo pueden usarse para revestir un compuesto farmacéutico, o un fármaco puede impregnarse o encapsularse en el polímero. Se cree que después de la administración oral, los polímeros permanecen estables en el tracto GI superior, pero se digieren por la microflora del GI inferior, liberando así el fármaco para el tratamiento.

Los polímeros que son sensibles al pH pueden usarse también ya que el colon tiene un pH mayor que el tracto GI superior. Dichos polímeros están disponibles en el mercado. Por ejemplo, Rohm Pharmaceuticals, Darmstadt, Alemania, comercializa polímeros y copolímeros basados en metacrilato dependientes del pH que tienen diversas solubilidades en los diferentes intervalos de pH según el número de grupos carboxilato libres en el polímero con el nombre comercial Eudragit®. Actualmente se usan diversas formas farmacéuticas de Eudragit® para administrar salesalazina para el tratamiento de la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. Se han estudiado también los sistemas de liberación temporizada, sistemas bioadhesivos, y otros sistemas de administración.

Además de los excipientes y procedimientos usados específicamente para administrar el fármaco al tracto GI superior, pueden usarse otros vehículos o excipientes. Para las formas farmacéuticas o medicamentos sólidos, otros vehículos sólidos no tóxicos incluyen, aunque sin limitación, calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, los polialquilenglicoles, talco, celulosa, glucosa, sacarosa y carbonato de magnesio. Los procedimientos reales de preparación de las formas farmacéuticas o medicamentos se conocen, o resultarán evidentes para los especialistas en esta técnica; por ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 16ª Edición, 1980. La composición de la formulación a administrar, en cualquier caso, contiene una cantidad de uno o más de los compuestos útiles de la presente invención en una cantidad eficaz que proporcione el efecto terapéutico deseado.

La dosis real de los compuestos activos de la presente invención depende del compuesto específico y de la afección a tratar; la selección de la dosis apropiada está dentro de los conocimientos del técnico especialista.

Esta invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes Ejemplos no limitantes.

Ejemplo de Referencia 1

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

Etapa 1

6-(*terc*-Butil-dimetil-silaniloximetil)-piperidin-2-ona

Se añadieron secuencialmente imidazol (1,16 g, 17,0 mmol) y cloruro de *terc*-butildimetilsililo (1,18 g, 7,85 mmol) a una solución de 6-hidroximetil-piperidin-2-ona racémica (preparada a partir de ácido D-aminoadípico racémico de acuerdo con Huang, *et al.*, Synth. Commun. 1989, 19, 3485-3496, 921 mg, 7,14 mmol) en DMF (10 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta y se agitó a ta durante 17 h. Se añadió benceno y EtOAc (3:7,200 ml) y la solución se lavó con salmuera (3 x 50 ml). La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 1,53 g (88%) de 6-(*terc*-butil-dimetil-silaniloximetil)-piperidin-2-ona en forma de un sólido blanco.

ES 2 334 374 T3

Etapa 2

Éster metílico del ácido 7-[2-terc-butil-dimetil-silaniloximetil]-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 219 mg, 5,27 mmol) a una solución de 6-(*terc*-butil-dimetil-silaniloximetil)-piperidin-2-ona (1,27 g, 5,21 mmol) en DMF (10 ml) a ta. Después de 1 h, se añadió 7-yodohept-5-inoato de metilo (1,52 g, 5,73 mmol) en DMF (2 ml) mediante una cánula. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió mediante la adición de HCl acuoso (0,5 M, 15 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (3 x 20 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → EtOAc al 40%/CH₂Cl₂) dio 1,04 g (53%) de éster metílico del ácido 7-[2-*terc*-butil-dimetil-silaniloximetil]-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico.

Etapa 3

Éster metílico del ácido 7-(2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico

Se añadió fluoruro de hidrógeno-piridina (2,5 ml) a una solución de éster metílico del ácido 7-[2-*terc*-butil-dimetil-silaniloximetil]-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (1,07 g, 2,80 mmol) en acetonitrilo (5,0 ml) en un vial de centelleo de plástico. Después de 3,5 h a ta, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (70 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 724 mg (97%) de éster metílico del ácido 7-(2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico.

Etapa 4

Éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico

Se añadieron secuencialmente clorhidrato de 1-(3-(dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI, 530 mg, 2,76 mmol) y DMSO (0,26 ml, 3,68 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 7-(2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico (246 mg, 0,92 mmol) en benceno (7,0 ml) a ta. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió trifluoroacetato de piridinio (196 mg, 1,01 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 2,5 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 5 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico bruto que se usó sin purificación adicional.

Etapa 5

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 37 mg, 0,91 mmol) a una solución de 2-oxoheptilfosfonato de dimetilo (217 mg, 0,83 mmol) en THF (4 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C, la solución se dejó calentar a ta. Después de 50 min a ta, la solución se volvió a enfriar a 0°C y se añadió éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico (en bruto de la reacción anterior, ~0,92 mmol) en THF (2 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético y agua (1:1,15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 40 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 10% → 50%/CH₂Cl₂) dio 175 mg (58%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 2

Ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 3 mg) a una solución de éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (18 mg, 0,45 mmol) en acetonitrilo (0,3 ml) y pH 7,2 con tampón fosfato (3,0 ml). Después de 18,5 h, se añadió acetonitrilo (10 ml) y la mezcla de reacción se concentró a sequedad al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 17 mg (97%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 3

Éster metílico del ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)piperidin-1-il]-hept-5-enoico

Un matraz de fondo redondo de 50 ml se cargó con cloruro de níquel (II) (273 mg, 2,10 mmol) y borohidruro sódico (40 mg, 1,05 mmol), después se añadió etanol al 95% (2,0 ml). La mezcla inmediatamente se volvió negra. Después de 15 min a ta, se añadió etilendiamina (0,23 ml, 3,36 mmol). Después de otros 15 min a ta, se añadió éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (152 mg, 0,42 mmol) en etanol al 95% (2,0 ml) mediante una cánula. Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 19 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con etanol, y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo resultante por cromatografía en columna ultrarrápida (gradiente de EtOAc al 10 → 50%/CH₂Cl₂) dio 65 mg (43%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 4

Ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (9 mg, 0,025 mmol) se convirtió en 5 mg (56%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 5

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-(3-oxo-octil)-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 5 mg) a una solución de éster metílico del ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (40 mg, 0,11 mmol) en MeOH (3,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 19 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 38 mg (94%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 6

Ácido 7-[2-oxo-6-(3-oxo-octil)-piperidin-1-il]-heptanoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo el éster metílico del ácido 2,7-[2-oxo-6-(3-oxo-octil)-piperidin-1-il]-heptanoico (14 mg, 0,038 mmol) se convirtió en 13 mg (97%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 7

Éster metílico del ácido 7-[2-(3-hidroxi-octil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió borohidruro sódico (24 mg, 0,63 mmol), seguido de MeOH (2 gotas), a una solución de éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-(3-oxo-octil)-piperidin-1-il]-heptanoico (23 mg, 0,063 mmol) en CH₂Cl₂ (1,0 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 4 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl (1,0 M acuoso) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (15 ml) y salmuera (15 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 14 mg (61%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 8

Ácido 7-[2-(3-hidroxi-octil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[2-(3-hidroxi-octil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (11,5 mg, 0,031 mmol) se convirtió en 6 mg (53%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 9

Éster metílico del ácido (Z)-7-[2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 7, el éster del ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (32 mg, 0,087 mmol) se convirtió en 25 mg (78%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 10

Ácido (Z)-7-[2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (Z)-7-[2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (10 mg, 0,028 mmol) se convirtió en 5 mg (52%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 11

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico

Etapas 1

Éster metílico del ácido 7-(2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico

Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 20 mg) a una solución de éster metílico del ácido 7-(2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico (180 mg, 0,67 mmol) en MeOH (6,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 23 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 184 mg (cuant.) de éster metílico del ácido 7-(2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico.

Etapas 2

Éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico

Se añadieron secuencialmente EDCI (212 mg, 1,10 mmol) y DMSO (0,10 ml, 1,48 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 7-(2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico (100 mg, 0,37 mmol) en benceno (4,0 ml) a ta. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió trifluoroacetato de piridinio (79 mg, 0,41 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 3,5 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 3 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico bruto que se usó sin purificación adicional.

Etapas 3

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 15 mg, 0,37 mmol) a una solución de 2-oxoheptilfosfonato de dimetilo (87 mg, 0,33 mmol) en THF (2 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C, la solución se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la solución se volvió a enfriar a 0°C y se añadió éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico (en bruto de la reacción anterior, ~0,37 mmol) en THF (2 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 17 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético (acuoso al 50%, 20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y salmuera (20 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 128 mg (95%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 12

Ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo el éster metílico del ácido 2,7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico (17 mg, 0,048 mmol) se convirtió en 2 mg (12%) del compuesto del título después de la cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) y cromatografía preparativa en capa fina (sílice, MeOH al 5%/CH₂Cl₂).

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 13

Éster metílico del ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió borohidruro sódico (42 mg, 1,10 mmol), seguido de MeOH (0,38 ml), a una solución de éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico (40 mg, 0,11 mmol) en CH₂Cl₂ (1,13 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 3 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (1,0 M) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío dando 40 mg (99%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 14

Ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (18 mg, 0,049 mmol) se convirtió en 6 mg (35%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 15

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 12 mg, 0,32 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropil-fosfonato de dimetilo (70 mg, 0,29 mmol) en THF (1,5 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C, la solución se dejó calentar a ta. Después de 50 min a ta, la solución se volvió a enfriar a 0°C y se añadió éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico (bruto, preparado de acuerdo con el ejemplo 11, etapa 2, ~0,32 mmol) en THF (1,5 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético (acuoso al 50%, 20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml) y salmuera (30 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 66 mg (59%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 16

Ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo el éster metílico del ácido 2,7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico (7 mg, 0,018 mmol) se convirtió en 2 mg (30%) del compuesto del título.

Ejemplo 1

Éster metílico del ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió borohidruro sódico (36 mg, 0,96 mmol), seguido de MeOH (0,25 ml), a una solución de éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico (37 mg, 0,096 mmol) en CH₂Cl₂ (0,75 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 1,5 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl (1,0 M acuoso) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y salmuera (20 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 32 mg (86%) del compuesto del título.

Ejemplo 2

Ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (10 mg, 0,026 mmol) se convirtió en 6,6 mg (68%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo 3

Éster metílico del ácido 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

5 Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 5 mg) a una solución de éster metílico del ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (20 mg, 0,052 mmol) en MeOH (2,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 22 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 13 mg (65%) del compuesto del título.

Ejemplo 4

Ácido 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

15 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo el éster metílico del ácido 2,7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (11 mg, 0,029 mmol) se convirtió en 3,5 mg (32%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 21

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-heptanoico

25 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 19, el éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico (20 mg, 0,052 mmol) se convirtió en 15 mg (75%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 22

Ácido 7-[2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-heptanoico

30 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-heptanoico (12 mg, 0,031 mmol) se convirtió en 2,8 mg (24%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 23

Éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

40 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 23 mg, 0,58 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropilfosfonato de dimetilo (171 mg, 0,64 mmol) en THF (2,0 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C, la solución se dejó calentar a ta. Después de 50 min a ta, la solución se volvió a enfriar a 0°C y se añadió éster metílico del ácido 7-(2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico (bruto, preparado de acuerdo con el ejemplo 1, etapa 4, -0,64 mmol) en THF (2,0 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético (acuoso al 50%, 20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml) y salmuera (30 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice dos veces (1^{er} gradiente CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂, y 2^o gradiente CH₂Cl₂ → EtOAc al 30%/CH₂Cl₂) dio 51 mg (21%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 24

Ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

55 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (9 mg, 0,024 mmol) se convirtió en 1,4 mg (16%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 25

Éster metílico del ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

65 Un matraz de fondo redondo se cargó con cloruro de níquel (II) (68 mg, 0,52 mmol) y borohidruro sódico (9,9 mg, 0,26 mmol), después se añadió etanol al 95% (1,0 ml). La mezcla inmediatamente se volvió negra. Después de 15 min a ta, se añadió etilendiamina (56 µl, 0,84 mmol). Después de 15 min más a ta, se añadió éster metílico del ácido 7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (40 mg, 0,10 mmol) en etanol al 95% (1,0 ml)

mediante una cánula. Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 18 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con etanol, y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo resultante por cromatografía en columna ultrarrápida (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{EtOAc}$ al 30%/ CH_2Cl_2) dio 28 mg (70%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 26

Ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (9,2 mg, 0,024 mmol) se convirtió en 8 mg (90%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 27

Éster metílico del ácido (Z)-7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

Se añadió borohidruro sódico (16 mg, 0,42 mmol), seguido de MeOH (0,25 ml), a una solución de éster metílico del ácido (Z)-7-[2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (16 mg, 0,042 mmol) en CH_2Cl_2 (0,75 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 2,5 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (1,0 M) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (15 ml) y salmuera (15 ml) después se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{EtOAc}$ al 50%/ CH_2Cl_2) dio 10 mg (62%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 28

Ácido (Z)-7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (Z)-7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (8,5 mg, 0,022 mmol) se convirtió en 2,4 mg (29%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 29

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Etapa 1

(R)-6-(*terc*-Butildimetilsilaniloximetil)-piperidin-2-ona

Se añadieron secuencialmente imidazol (773 mg, 11,4 mmol) y cloruro de *terc*-butildimetilsililo (787 mg, 5,22 mmol) a una solución de (R)-6-hidroximetil-piperidin-2-ona (preparada a partir de ácido D- μ -aminoadípico de acuerdo con Huang, *et al.*, Synth. Commun. 1989,19, 3485-3496, 613 mg, 4,75 mmol) en DMF (8 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta y se agitó a ta durante 20 h. Se añadió benceno y EtOAc (3:7,200 ml) y la solución se lavó con salmuera (3 x 50 ml). La fase orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{MeOH}$ al 3%/ CH_2Cl_2) dio 1,13 g (98%) de (R)-6-(*terc*-butildimetilsilaniloximetil)-piperidin-2-ona en forma de un sólido blanco.

Etapa 2

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-*terc*-butildimetilsilaniloximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 195 mg, 4,87 mmol) a una solución de (R)-6-(*terc*-butildimetilsilaniloximetil)-piperidin-2-ona (1,13 g, 4,64 mmol) en DMF (8 ml) a ta. Después de 1 h, se añadió 7-yodohept-5-inoato de metilo (1,35 g, 5,07 mmol) en DMF (2 ml) mediante una cánula. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió mediante la adición de HCl acuoso (0,5 M, 25 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (50 ml) y salmuera (3 x 50 ml), se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{EtOAc}$ al 50%/ CH_2Cl_2) dio 713 mg (40%) de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-*terc*-butildimetilsilaniloximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico.

ES 2 334 374 T3

Etapa 3

Éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico

5 Se añadió fluoruro de hidrógeno-piridina (2 ml) a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-*terc*-butildimetilsilaniloximetil]-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (705 g, 1,85 mmol) en acetonitrilo (4,0 ml) en un vial de centelleo de plástico. Después de 3,5 h a ta, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 347 mg (70%) de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico.

Etapa 4

Éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico

20 Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 10 mg) a una solución de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico (110 mg, 0,41 mmol) en MeOH (3,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 22 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 110 mg (99%) de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico.

Etapa 5

Éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico

30 Se añadieron secuencialmente EDCI (119 mg, 0,62 mmol) y DMSO (59 µl, 0,83 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico (56 mg, 0,21 mmol) en benceno (2,0 ml) a ta. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió trifluoroacetato de piridinio (44 mg, 0,23 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 3 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 2 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico bruto que se usó sin purificación adicional.

Etapa 6

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico

40 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 8,2 mg, 0,21 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropilfosfonato de dimetilo (45 mg, 0,19 mmol) en THF (1,0 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C, la solución se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la solución se volvió a enfriar a 0°C y se añadió éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-heptanoico (en bruto de la reacción anterior, ~0,21 mmol) en THF (1,0 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético (acuoso al 50%, 10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y salmuera (20 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 36,5 mg (51%) de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico.

Etapa 7

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

60 Se añadió borohidruro sódico (35 mg, 0,93 mmol), seguido de MeOH (0,25 ml), a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico (36 mg, 0,093 mmol) en CH₂Cl₂ (0,75 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 3 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (0,5 M, 5 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía preparativa en capa fina (sílice, MeOH al 5%/CH₂Cl₂) dio 20 mg (55%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 30

Ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (15 mg, 0,39 mmol) en acetonitrilo (0,2 ml) y pH 7,2 con tampón fosfato (3,0 ml). Después de 16,5 h, se añadió acetonitrilo (5 ml) y la mezcla de reacción se concentró a sequedad al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{MeOH}$ al 2%/ CH_2Cl_2) dio 8,7 mg (60%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 31

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Etapa 1

Ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 7,2 mg, 0,18 mmol) a una solución de 2-oxoheptilfosfonato de dimetilo (47 mg, 0,19 mmol) en THF (1 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C, la solución se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la solución se volvió a enfriar a 0°C y se añadió éster metílico del ácido 7-[(R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (bruto, preparado de acuerdo con el Ejemplo 29, etapa 5, ~0,20 mmol) en THF (1 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 17 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético acuoso (50%, 5 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml) después se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{MeOH}$ al 2%/ CH_2Cl_2) dio 59 mg (90%) de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico.

Etapa 2

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió borohidruro sódico (28 mg, 0,74 mmol), seguido de MeOH (0,25 ml), a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-heptanoico (55 mg, 0,15 mmol) en CH_2Cl_2 (0,75 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (1,0 M, 2 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml) después se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío dando 55 mg (99%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 32

Ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (23 mg, 0,063 mmol) se convirtió en 10 mg (45%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 33

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-(3-hidroxi-octil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 7 mg) a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (33 mg, 0,90 mmol) en MeOH (3,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 18,5 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 28 mg (84%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 34

Ácido 7-[(R)-2-(3-hidroxi-octil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

- 5 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[(R)-2-(3-hidroxi-octil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (24 mg, 0,065 mmol) se convirtió en 22 mg (95%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 35 y Ejemplo de Referencia 36

10 *Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico*

y

15 *(R)-1-(7-hidroxi-hept-2-inil)-6-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-piperidin-2-ona*

Etapas 1

20 *Éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico*

- Se añadieron secuencialmente EDCI (127 mg, 0,66 mmol) y DMSO (62 μ l, 0,87 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico (preparado de acuerdo con Ejemplo 29, etapa 3, 59 mg, 0,22 mmol) en benceno (2,0 ml) a ta. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió trifluoroacetato de piridinio (47 mg, 0,24 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 2 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 2 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico bruto que se usó sin purificación adicional.

Etapas 2

30 *Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico*

- Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 8,8 mg, 0,22 mmol) a una solución de 2-oxoheptilfosfonato de dimetilo (52 mg, 0,23 mmol) en THF (1 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C, la solución se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la solución se volvió a enfriar a 0°C y se añadió éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-inoico (en bruto de la reacción anterior, ~0,22 mmol) en THF (1 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18,5 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético acuoso (50%, 5 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 68 mg (85%) de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico.

Etapas 3

45 *Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico y (R)-1-(7-hidroxi-hept-2-inil)-6-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-piperidin-2-ona*

- Se añadió borohidruro sódico (35 mg, 0,93 mmol), seguido de MeOH (0,25 ml), a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (68 mg, 0,19 mmol) en CH₂Cl₂ (1,0 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (1,0 M, 3 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 26 mg (38%) de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico y 5,3 mg (8%) de (R)-1-(7-hidroxi-hept-2-inil)-6-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-piperidin-2-ona.

Ejemplo de Referencia 37

60 *Éster metílico del ácido (Z)-7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico*

- Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 3 mg) a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (13,5 mg, 0,037 mmol) en MeOH (2,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 23 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con etanol, y el filtrado se concentró al vacío dando 13,2 mg (97%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 38

Ácido (Z)-7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

- 5 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (Z)-7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (10,5 mg, 0,029 mmol) se convirtió en 1,3 mg (13%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 39

10

Éster metílico del ácido (Z)-7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

Etapa 1

15

Éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico

- Se añadió etanol al 95% (0,5 ml) a una mezcla de cloruro de níquel (II) (105 mg, 0,81 mmol) y borohidruro sódico (15 mg, 0,40 mmol). La mezcla inmediatamente se volvió negra. Después de 15 min a ta, se añadió etilendiamina (86 μ l, 1,29 mmol). Después de 15 min a ta, se añadió una solución de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico (del Ejemplo 1, etapa 3, 43,3 mg, 0,16 mmol) en etanol al 95% (1,0 ml) mediante una cánula. Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 19 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con etanol, y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{MeOH}$ al 3%/CH₂Cl₂) dio 16,7 mg (38%) de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico.

Etapa 2

30

Éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico

- Se añadieron secuencialmente EDCI (36 mg, 0,19 mmol) y DMSO (18 μ l, 0,25 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 7-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico (16,7 mg, 0,062 mmol) en benceno (1,0 ml) a ta. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió trifluoroacetato de piridinio (13,2 mg, 0,068 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 2,5 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 1 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico bruto que se usó sin purificación adicional.

40

Etapa 3

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

45

- Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 2,5 mg, 0,063 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropilfosfonato de dimetilo (14 mg, 0,058 mmol) en THF (0,3 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C ta, se añadió éster metílico del ácido 7-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-hept-5-enoico (en bruto de la reacción anterior, ~0,062 mmol) en THF (0,7 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético (acuoso al 50%, 5 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{EtOAc}$ al 25%/CH₂Cl₂) dio 10 mg (42%) de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico.

55

Etapa 4

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

60

- Se añadió borohidruro sódico (2,0 mg, 0,053 mmol), seguido de MeOH (0,1 ml), a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (10 mg, 0,026 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 10 min a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (1,0 M, 1 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{MeOH}$ al 2%/CH₂Cl₂) dio 9,9 mg (98%) del compuesto del título.

65

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 40

Ácido (Z)-7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico

5 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (Z)-7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-enoico (6,9 mg, 0,018 mmol) se convirtió en 2,0 mg (30%) del compuesto del título.

10 Ejemplo de Referencia 41

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

15 Etapa 1

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

20 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 3,8 mg, 0,095 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropilfosfonato de dimetilo (21 mg, 0,087 mmol) en THF (0,5 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C ta, se añadió éster metílico del ácido 7-[(R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (preparado de acuerdo con el ejemplo 7, etapa 1, bruto, ~0,095 mmol) en THF (0,5 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 17,5 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético (acuoso al 50%, 5 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). La fase orgánica combinada se lavó salmuera (10 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → EtOAc al 30%/CH₂Cl₂) dio 14 mg (42%) de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico.

30 Etapa 2

Éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

35 Se añadió borohidruro sódico (2 mg, 0,053 mmol), seguido de MeOH (0,1 ml), a una solución de éster metílico del ácido 7-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (14 mg, 0,037 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 30 min a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (1,0 M, 1 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (10 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 11 mg (78%) del compuesto del título.

40 Ejemplo de Referencia 42

Ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

45 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (8,7 mg, 0,023 mmol) se convirtió en 4,1 mg (49%) del compuesto del título.

50 Ejemplo de Referencia 43

Éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

55 Una mezcla de ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (9,7 mg, 0,026 mmol), 1-isopropil-3-p-toliltriazeno (5 mg, 0,028 mmol) y acetona (0,5 ml) se agitó a ta durante 18 h. La reacción se interrumpió con NH₄Cl₂ acuoso saturado (2 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 3 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ al 50%/Hexano → CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 5,1 mg (47%) del compuesto del título.

60 Ejemplo 6

Amida del ácido [(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico

65 Se añadió trietilamina (9 µl, 0,065 mmol) a una solución de ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (11,3 mg, 0,030 mmol) en CH₂Cl₂ (0,3 ml) a ta. Después de enfriar a 0°C, se añadió cloroformiato de etilo (3,2 µl, 0,033 mmol). Después de 1 h a 0°C, se añadió una solución de amoníaco (0,5 M en 1,4-

ES 2 334 374 T3

dioxano, 0,3 ml, 0,15 mmol) y la mezcla de reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (10 ml) y se lavó con HCl acuoso (0,5 M, 3 ml), NaHCO₃ acuoso saturado (5 ml) y salmuera (5 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 3,5 mg (31%) del compuesto del título.

Ejemplo 7 y Ejemplo 8

Éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (diastereómero que eluye más rápido por HPLC)

y

Éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico (diastereómero que eluye más lento por HPLC)

Los dos diastereómeros del ejemplo 15 (47 mg, 0,11 mmol) disueltos en EtOAc al 20%/Hexano (1,75 ml) se separaron en tres lotes (0,5 ml, 0,5 ml y 0,75 ml) en un instrumento Waters 600 HPLC empleando un detector Waters 2996 PDA y una columna Whatman Partisil® 10 que tiene dimensiones de 9,4 x 500 mm. Usando EtOAc como eluyente y un caudal de 8 ml/min, el primer diastereómero (7,8 mg aislados en total) eluyó a 18 min, y el segundo diastereómero (9 mg aislados en total) eluyó a 22 min.

Ejemplo de Referencia 47

Éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico

Se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (15 µl, 0,10 mmol) a una solución de ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (25 mg, 0,068 mmol) en acetona (0,68 ml) a ta. Después de 5 min, se añadió 2-yodopropano (34 µl, 0,34 mmol). Después de 18 h a ta, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (25 ml) y se lavó con HCl acuoso (0,5 M, 10 ml), NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml) después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 5%/CH₂Cl₂) dio 13 mg (47%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 48 y Ejemplo de Referencia 49

Éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (diastereómero que eluye más rápido por HPLC)

y

Éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-hept-5-inoico (diastereómero que eluye más lento por HPLC)

Los dos diastereómeros de ejemplo 19 (11 mg, 0,027 mmol) disueltos en EtOAc (0,75 ml) se separaron en un instrumento Waters 600 HPLC empleando un detector Waters 2996 PDA y una columna Whatman Partisil® 10 que tiene dimensiones de 22 x 500 mm. Usando EtOAc como eluyente y un caudal de 10 ml/min, el primer diastereómero (3 mg) eluyó a 40 min, y el segundo diastereómero (3 mg) eluyó a 44 min.

Ejemplo de Referencia 50

Éster metílico del ácido (4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-butoxi)-acético (Figura 1)

Etapas 1

(R)-6-(1-Etoxietoximetil)-piperidin-2-ona

Se añadieron secuencialmente etil vinil éter (1,68 ml, 17,5 mmol) y ácido trifluoroacético (0,1 ml) a una solución de (R)-6-hidroximetilpiperidin-2-ona (preparada a partir de ácido D-μ-aminoadípico de acuerdo con Huang, *et al.*, Synth. Commun. 1989, 19, 3485-3496, 1,62 g, 12,5 mmol) en CHCl₃ (10 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 18 h, después se añadió NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml) y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 75 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 4%/CH₂Cl₂) dio 2,03 g (80%) de (R)-6-(1-etoxietoximetil)-piperidin-2-ona.

ES 2 334 374 T3

Etapa 2

Éster etílico del ácido [(Z)-4-[(R)-2-(1-etoxietoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi]-acético

5 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 402 mg, 10,0 mmol) a una solución de (R)-6-(1-etoxietoximetil)-piperidin-2-ona (2,02 g, 10,0 mmol) en DMF (15 ml) a 0°C. Después de 1 h, se añadió una solución de yoduro potásico (1,66 g, 10,0 mmol) y éster etílico del ácido ((Z)-4-cloro-but-2-eniloxi)-acético (preparado de acuerdo con el documento PCT 2003/007941, 3,09 g, 16,0 mmol) en DMF (10 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió mediante la adición de NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml) y la
10 mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (3 x 100 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 10%/CH₂Cl₂ → EtOAc al 60%/CH₂Cl₂) dio 1,10 g (31%) de éster etílico del ácido [(Z)-4-[(R)-2-(1-etoxietoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi]-acético.

15 Etapa 3

Éster metílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético

20 Se añadió ácido p-toluenosulfónico hidrato (620 mg, 3,26 mmol) a una solución de éster etílico del ácido [(Z)-4-[(R)-2-(1-etoxietoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi]-acético (1,10 g, 3,08 mmol) en MeOH (10 ml). Después de 17 h a ta, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 40%/CH₂Cl₂ → EtOAc al 60%/CH₂Cl₂, después MeOH al 7%/CH₂Cl₂) dio 538 mg (64%) de éster metílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético.
25

30 Etapa 4

Éster metílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético

Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 25 mg) a una solución de éster metílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético (318 mg, 1,17 mmol) en MeOH (5,0 ml). Se estableció una
35 atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 2,25 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 30%/CH₂Cl₂ → EtOAc al 50%/CH₂Cl₂, después MeOH al 2%/CH₂Cl₂ → MeOH al 5%/CH₂Cl₂) dio 285 mg (89%) de éster metílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético.
40

Etapa 5

Éster metílico del ácido [4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético

45 Se añadió una solución de cloruro de oxalilo (0,15 ml, 1,76 mmol) en CH₂Cl₂ (1,0 ml) a una solución de DMSO (0,16 ml, 2,25 mmol) en CH₂Cl₂ (1,0 ml) a -78°C. Después de 15 min a -78°C, se añadió una solución de éster metílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético (240 mg, 0,88 mmol) en CH₂Cl₂ (1,5 ml) mediante una cánula. Después de 20 min a -78°C, se añadió trietilamina (0,37 ml, 2,65 mmol). Después de 20 min a -78°C, la mezcla se dejó calentar a 0°C. Después de 30 min a 0°C, la reacción se dejó calentar a ta. Después de 45 min a ta, se añadió NaHCO₃ acuoso saturado (15 ml) y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 40% → 70%/CH₂Cl₂) dio 96 mg (40%) de éster metílico del ácido [4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético.
55

Etapa 6

Éster metílico del ácido (4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-butoxi)-acético

60 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 14 mg, 0,35 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropilfosfonato de dimetilo (83 mg, 0,34 mmol) en THF (1,0 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió éster metílico del ácido [4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético (94 mg, 0,35 mmol) en THF (1 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 22 h a ta, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 30% → 50%/CH₂Cl₂) dio 42 mg (31%) del compuesto del título.
65

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 51

Ácido {4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-butoxi}-acético

- 5 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-butoxi}-acético (10 mg, 0,026 mmol) se convirtió en 7,7 mg (80%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 52

10

Éster metílico del ácido {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético

- 15 Se añadió borohidruro sódico (4 mg, 0,11 mmol), seguido de MeOH (0,25 ml), a una solución de éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-butoxi}-acético (28 mg, 0,072 mmol) en CH₂Cl₂ (0,75 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 40 min a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (0,5 M) y se extrajo con EtOAc (3 x 7 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío dando 22 mg (78%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 53

Ácido {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético

- 25 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético (12,6 mg, 0,032 mmol) se convirtió en 10,5 mg (86%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 54

Éster metílico del ácido {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético

- 35 Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 3 mg) a una solución de éster metílico del ácido {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético (9,5 mg, 0,024 mmol) en MeOH (2,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 4 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 8,2 mg (86%) del compuesto del título.

40

Ejemplo de Referencia 55

Ácido {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético

- 45 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético (7,2 mg, 0,018 mmol) se convirtió en 6,9 mg (99%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 56

50

Éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (Figura 2)

Etapa 1

55

Éster metílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético

- 60 Se añadió anhídrido trifluoroacético (0,24 ml, 1,70 mmol) a una solución de DMSO (0,14 ml, 1,97 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a -78°C. Después de 15 min a -78°C, se añadió una solución de éster metílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético (del ejemplo 1, etapa 3, 220 mg, 0,81 mmol) en CH₂Cl₂ (1,5 ml) mediante una cánula. Después de 20 min a -78°C, se añadió trietilamina (0,33 ml, 2,37 mmol) y la mezcla de reacción se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (15 ml) y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 10% → 50%/CH₂Cl₂) dio 150 mg (69%) de éster metílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético.

65

ES 2 334 374 T3

Etapa 2

Éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético

5 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 22 mg, 0,55 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropil-fosfonato de dimetilo (135 mg, 0,56 mmol) en THF (1,0 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió éster metílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético (150 mg, 0,56 mmol) en THF (1 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 16,5 h a ta, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso
10 saturado (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 30% → 60%/CH₂Cl₂) dio 91 mg (42%) del compuesto del título.

15 Ejemplo de Referencia 57

Ácido ((Z)-4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi)-acético

20 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (6,3 mg, 0,016 mmol) se convirtió en 1,9 mg (31%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 58

25 *Éster metílico del ácido (4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-butoxi)-acético*

30 Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 2 mg) a una solución de éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (9,7 mg, 0,025 mmol) en MeOH (1,5 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 19 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 8,3 mg (85%) del compuesto del título.

35 Ejemplo de Referencia 59

Ácido (4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-butoxi)-acético

40 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-butoxi}-acético (6,9 mg, 0,018 mmol) se convirtió en 6,2 mg (93%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 60

45 *Éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético*

50 Se añadió borohidruro sódico (4 mg, 0,11 mmol), seguido de MeOH (0,25 ml), a una solución de éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (28 mg, 0,073 mmol) en CH₂Cl₂ (0,75 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 1 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (0,5 M) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío dando 22 mg (78%) del compuesto del título.

55 Ejemplo de Referencia 61

Ácido {(Z)-4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético

60 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (17,7 mg, 0,046 mmol) se convirtió en 17 mg (99%) del compuesto del título.

65

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 62

Éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético

Una solución de éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (24,6 mg, 0,064 mmol) en CH₃CN (1,5 ml) se añadió mediante una cánula a hexámero de hidruro (trifenilfosfina) de cobre (I) (125 mg, 0,064 mmol) a -40°C. Después de 1 h a -40°C, la reacción se dejó calentar a ta. Después de 3 h a ta, la reacción se interrumpió mediante la adición de una solución de NH₄OH y NH₄O acuoso saturado (1:1,6 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 20% → 70%/CH₂Cl₂) dio 19,6 mg (79%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 63

Ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (6,1 mg, 0,016 mmol) se convirtió en 1,7 mg (29%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 64

Éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético

Se añadió borohidruro sódico (2 mg, 0,053 mmol), seguido de MeOH (0,15 ml), a una solución de éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (11,5 mg, 0,030 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a ta. Después de 30 min a ta, la reacción se interrumpió con HCl acuoso (0,5 M) y se extrajo con EtOAc (3 x 7 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío dando 10,1 mg (87%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 65

Ácido {(Z)-4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (6,2 mg, 0,016 mmol) se convirtió en 1,6 mg (27%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 66

Ácido (4-{(R)-2-((E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acético (Figura 3)

Etapa 1

Éster etílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético

Se añadió ácido p-toluenosulfónico hidrato (267 mg, 1,40 mmol) a una solución de éster etílico del ácido {(Z)-4-[(R)-2-(1-etoxietoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético (del ejemplo 50, etapa 2, 477 mg, 1,33 mmol) en EtOH (6 ml). Después de 18 h a ta, la reacción se concentró al vacío y se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml). La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 290 mg (76%) de éster etílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético.

ES 2 334 374 T3

Etapa 2

Éster etílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético

5 Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 15 mg) a una solución de éster etílico del ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético (290 mg, 1,02 mmol) en EtOH (3,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con EtOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 295 mg (cuant., bruto) de éster etílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético.

Etapa 3

Éster etílico del ácido [4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético

Se añadieron secuencialmente clorhidrato de 1-(3-(dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI, 505 mg, 2,63 mmol) y DMSO (0,25 ml, 3,52 mmol) a una solución de éster etílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético (252 mg, 0,88 mmol) en benceno (5 ml). La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió trifluoroacetato de piridinio (187 mg, 0,97 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 4,25 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 5 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando éster etílico del ácido 4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético bruto que se usó sin purificación adicional.

Etapa 4

Éster etílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi)-acético

30 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 35 mg, 0,88 mmol) a una solución de éster dimetílico del ácido [3-(3-clorofenil)-2-oxopropil]-fosfónico (221 mg, 0,80 mmol) en THF (2,0 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió éster etílico del ácido [4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi]-acético (0,88 mmol, bruto) en THF (2 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético acuoso (50%, 10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (25 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 20% → 40%/CH₂Cl₂) dio 117 mg (34%) de éster etílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi)-acético.

Etapa 5

Éster etílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi)-acético

45 Se añadió borohidruro sódico (10 mg, 0,26 mmol) seguido de EtOH (0,25 ml) a una solución de éster etílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi)-acético (110 mg, 0,25 mmol) en CH₂Cl₂ (1,0 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C la reacción se interrumpió con HCl acuoso 1 N. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml), después los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 88 mg (80%) de éster etílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi)-acético.

Etapa 6

Ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi)-acético

60 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster etílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il)-butoxi)-acético (88 mg, 0,20 mmol) se convirtió en 44 mg (54%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 67

2-(4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi)-acetamida

- 5 Se añadió trietilamina (8,81,0,063 mmol) a una solución de ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi)-acético (12,4 mg, 0,030 mmol) en CH₂Cl₂ (0,2 ml). Después de enfriar a 0°C, la mezcla de reacción se trató con cloroformiato de etilo (3,2 µl, 0,033 mmol). Después de 1 h a 0°C, se añadió amoniaco (0,5 M en 1,4-dioxano, 0,32 ml, 0,16 mmol) y la mezcla de reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la mezcla de reacción se trató con NaHCO₃ acuoso saturado (5 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 ml). Los
10 extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de MeOH al 5% → 20%/CH₂Cl₂) dio 1,3 mg (11%) del compuesto del título.

15 Ejemplo de Referencia 68

Éster isopropílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi)-acético

- 20 Se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU, 16 µl, 0,11 mmol) a una solución de ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi)-acético (29 mg, 0,071 mmol) en acetona (0,5 ml). Después de 5 min, se añadió 2-yodopropano (35 µl, 0,35 mmol). Después de 17 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío, se añadió EtOAc (15 ml) y la mezcla resultante se lavó con HCl acuoso 0,5 M (5 ml), NaHCO₃ acuoso saturado (5 ml) y salmuera (5 ml). La fase orgánica se secó después (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La
25 purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 5%/CH₂Cl₂) dio 16 mg (50%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 69

Éster metílico del ácido (4-((R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi)-acético

Etapa 1

- 35 *Éster metílico del ácido (4-hidroxi-but-2-iniloxi)-acético*

- Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 2,32 g, 58 mmol) a una solución de 2-butin-1,4-diol (5,0 g, 58 mmol) en THF (60 ml) a 0°C en atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h a 0°C, se añadió bromometilacetato de metilo (5,5 ml, 58 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl 1 N (60 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (1 x 100 ml), se
40 secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 5%/CH₂Cl₂) dio 3,2 g (35%) de éster metílico del ácido (4-hidroxi-but-2-iniloxi)-acético.

Etapa 2

- 50 *Éster metílico del ácido (4-yodo-but-2-iniloxi)-acético*

- Se añadieron secuencialmente trifenilfosfina (6,23 g, 23,8 mmol), yodo (6,03 g, 23,8 mmol) e imidazol (1,57 g, 23,8 mmol) a una solución de éster metílico del ácido (4-hidroxi-but-2-iniloxi)-acético (3,13 g, 19,8 mmol) en CH₂Cl₂ (30 ml). Después de 1 h a ta, la reacción se filtró a través de alúmina básica de actividad I, lavando con EtOAc al 20%/Hexano. El filtrado se concentró al vacío y después se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre
55 gel de sílice (gradiente de Hexano → EtOAc al 20%/Hexano) dando 2,05 g (39%) de éster metílico del ácido (4-yodo-but-2-iniloxi)-acético.

Etapa 3

- 60 *Éster metílico del ácido {4-[(R)-2-(1-etoxi-etoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético*

- Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 278 mg, 6,95 mmol) a una solución de (R)-6-(1-etoxi-etoximetil)-piperidin-2-ona (del ejemplo 50, etapa 1, 1,40 g, 6,96 mmol) en DMF (10 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió éster metílico del ácido (4-yodo-but-2-iniloxi)-acético (2,05 g, 7,65 mmol) en DMF (10 ml) mediante una
65 cánula y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 15 min a ta, la mezcla de reacción solidificó, por lo que se añadió más DMF (3 ml). Después de 18 h a ta, la reacción se trató con NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml) y se extrajo con

ES 2 334 374 T3

EtOAc (3 x 70 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (2 x 50 ml) y salmuera (2 x 50 ml) y después se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 20% → 50%/CH₂Cl₂) dio 500 mg (21%) de éster metílico del ácido {4-[(R)-2-(1-etoxi-etoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético.

Etapa 4

Éster metílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acético

Se añadió ácido p-toluenosulfónico hidrato (289 mg, 1,52 mmol) a una solución de éster metílico del ácido (4-[(R)-2-(1-etoxi-etoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (494 mg, 1,45 mmol) en MeOH (5,0 ml) a ta. Después 20 h a ta, la mezcla se concentró al vacío, se trató con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). La fase orgánica combinada se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 100 mg (26%) de éster metílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acético.

Etapa 5

Éster metílico del ácido [4-{(R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi]-acético

Se añadió EDCI (214 mg, 1,12 mmol) a una solución de éster metílico del ácido [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acético (100 mg, 0,37 mmol) en benceno (3,5 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió DMSO (0,11 ml, 1,55 mmol). Después de 5 min a 0°C, se añadió trifluoroacetato de piridinio (79 mg, 0,41 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 3 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 3 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando éster metílico del ácido [4-{(R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi]-acético bruto, que se usó sin purificación adicional.

Etapa 6

Éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 15 mg, 0,39 mmol) a una solución de éster dimetílico del ácido [3-(3-clorofenil)-2-oxopropil]-fosfónico (97 mg, 0,35 mmol) en THF (1,5 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió una solución de éster metílico del ácido [4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acético (0,37 mmol, bruto) en THF (1,5 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético acuoso (50%, 15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (20 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 20% → 30%/CH₂Cl₂) dio 100 mg (68%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 70

Ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético (8,0 mg, 0,019 mmol) se convirtió en 7,0 mg (91%) del compuesto del título.

Ejemplos de Referencia 71 y 72

Éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

y

(R)-6-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-1-[4-(2-hidroxietoxi)-but-2-inil]-piperidin-2-ona

Se añadió borohidruro sódico (5 mg, 0,13 mmol) seguido de MeOH (0,5 ml) a una solución de éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético (48 mg, 0,11 mmol) en CH₂Cl₂ (1,0 ml) a 0°C. Después de 20 min a 0°C la reacción se interrumpió con HCl acuoso 0,5 N. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml), después los extractos combinados se secaron (MgSO₄), se filtraron y

ES 2 334 374 T3

se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{MeOH}$ al 2%/CH₂Cl₂) seguido de cromatografía preparativa en capa fina (MeOH al 5%/CH₂Cl₂) dio 22 mg (46%) de éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético y 1,7 mg (4%) de (R)-6-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-1-[4-(2-hidroxietoxi)-but-2-inil]-piperidin-2-ona.

Ejemplo de Referencia 73

Ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético (18 mg, 0,043 mmol) se convirtió en 15,6 mg (90%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 74

Éster isopropílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

Se añadió DBU (6,6 µl, 0,044 mmol) a una solución de ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético (12 mg, 0,030 mmol) en acetona (0,3 ml). Después de 5 min, se añadió 2-yodopropano (15 µl, 0,15 mmol). Después de 19 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío, se añadió HCl acuoso 0,5 M (5 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml) después se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 7,9 mg (60%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 75

Éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[4-(3-clorofenil)-3-oxo-butil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

Una solución de éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[(E)-4-(3-clorofenil)-3-oxo-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético (35 mg, 0,084 mmol) en tolueno (2 ml) se añadió mediante una cánula a un matraz de fondo redondo que contiene hexámero de hidrido(trifenilfosfina) de cobre (I) (164 mg, 0,084 mmol) a -40°C en atmósfera de nitrógeno. La reacción se dejó calentar a ta y se agitó durante 3 h. La reacción se interrumpió con NH₄OH/NH₄O (1:1,5 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 20% → 50%/CH₂Cl₂) seguido de cromatografía preparativa en capa fina (sílice, EtOAc al 80%/CH₂Cl₂) dio 12 mg (34%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 76

Ácido (4-{(R)-2-[4-(3-clorofenil)-3-oxo-butil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[4-(3-clorofenil)-3-oxo-butil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético (4,7 mg, 0,011 mmol) se convirtió en 2,8 mg (62%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 77

Éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-butil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético

Se añadió borohidruro sódico (2 mg, 0,053 mmol) seguido de MeOH (0,1 ml) a una solución de éster metílico del ácido (4-{(R)-2-[4-(3-clorofenil)-3-oxo-butil]-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi)-acético (5 mg, 0,012 mmol) en CH₂Cl₂ (0,3 ml) a 0°C. Después de 10 min a 0°C la reacción se interrumpió con HCl acuoso (0,25 M, 3 ml). La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 4 ml), después los extractos combinados se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 4,6 mg (92%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 78

Ácido (4-[(R)-2-[4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-butil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi)-acético

5 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido (4-[(R)-2-[4-(3-clorofenil)-3-hidroxi-butil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi)-acético (3,5 mg, 0,0083 mmol) se convirtió en 1,5 mg (44%) del compuesto del título.

10 Ejemplo de Referencia 79

Éster metílico del ácido (4-[(R)-2-oxo-6-[(E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil]-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi)-acético

15 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 41 mg, 1,03 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropilfosfonato de dimetilo (247 mg, 1,02 mmol) en THF (4 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, una solución de éster metílico del ácido [4-[(R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi]-acético (1,23 mmol, bruto, preparado como en el Ejemplo 69, etapa 4) en THF (3 ml) se añadió mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético acuoso (50%, 30 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 40 ml).
20 La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 30% → 50%/CH₂Cl₂) dio 122 mg (31%) del compuesto del título.

25 Ejemplo de Referencia 80

Ácido (4-[(R)-2-oxo-6-[(E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil]-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi)-acético

30 De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-[(E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil]-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (6,8 mg, 0,018 mmol) se convirtió en 1,1 mg (17%) del compuesto del título.

Ejemplos de Referencia 81 y 82

35 *Éster metílico del ácido {4-[(R)-2-[(E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético*

y

40 *(R)-1-[4-(2-hidroxi-etoxi)-but-2-inil]-6-[(E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-piperidin-2-ona*

Se añadió borohidruro sódico (24 mg, 0,63 mmol) seguido de MeOH (1 ml) a una solución de éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-[(E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil]-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (82 mg, 0,21 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a 0°C. Después 5 min a 0°C la reacción se interrumpió con HCl acuoso (0,2 M, 10 ml). La mezcla
45 de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml), después los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 56,5 mg (69%) de éster metílico del ácido (4-[(R)-2-[(E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi)-acético y 11 mg (14%) de (R)-1-[4-(2-hidroxi-etoxi)-but-2-inil]-6-[(E)-3-
50 hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-piperidin-2-ona.

Ejemplo de Referencia 83

55 *Ácido {4-[(R)-2-[(E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético*

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-[(E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (54,4 mg, 0,14 mmol) se convirtió en 31 mg (59%) del compuesto del título

60

Ejemplo de Referencia 84

Éster isopropílico del ácido {4-[(R)-2-[(E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético

65

Se añadió DBU (10 µl, 0,067 mmol) a una solución de ácido {4-[(R)-2-[(E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil]-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (16,6 mg, 0,045 mmol) en acetona (0,5 ml). Después de 5 min, se añadió 2-yodopropano (22,5 µl, 0,225 mmol). Después de 18 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (25 ml) y se lavó

ES 2 334 374 T3

secuencialmente con HCl acuoso (0,1 M, 10 ml), NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml). La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío dando 10,6 mg (57%) del compuesto del título.

5 Ejemplo de Referencia 85

2-{4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acetamida

Se añadieron secuencialmente trietilamina (9,4 µl, 0,067 mmol) y cloroformiato de etilo (3,1 µl, 0,032 mmol) a una solución de ácido {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (11,8 mg, 0,032 mmol) en CH₂Cl₂ (0,2 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió amoníaco (0,5 M en 1,4-dioxano, 0,32 ml, 0,16 mmol) y la mezcla de reacción se dejó calentar a ta. Después de 17 h a ta, la mezcla de reacción se trató con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío dando 11 mg (93%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 86

Éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético

Una solución de éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (30 mg, 0,078 mmol) en tolueno (2 ml) se añadió mediante una cánula a un matraz de fondo redondo que contenía hexámero de hidruro(trifenilfosfina) de cobre (I) (154 mg, 0,078 mmol) a -40°C en atmósfera de nitrógeno. La reacción se dejó calentar a ta y se agitó durante 2,5 h. La reacción se interrumpió con NH₄OH/NH₄O (1:1,8 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos combinados se secaron, se lavaron con salmuera (10 ml) y después se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 20% → 40%/CH₂Cl₂) dio 23,4 mg (78%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 87

Ácido {4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (6,5 mg, 0,017 mmol) se convirtió en 5,2 mg (83%) del compuesto del título.

Ejemplos de Referencia 88 y 89

Éster metílico del ácido {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético

y

(R)-1-[4-(2-hidroxi-etoxi)-but-2-inil]-6-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-2-ona

Se añadió borohidruro sódico (4,4 mg, 0,12 mmol) seguido de MeOH (0,2 ml) a una solución de éster metílico del ácido {4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (15 mg, 0,039 mmol) en CH₂Cl₂ (0,6 ml) a 0°C. Después 5 min a 0°C la reacción se interrumpió con HCl acuoso (0,2 M, 5 ml). La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 ml), después los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (CH₂Cl₂ → MeOH al 5%/CH₂Cl₂) dio 13 mg (86%) de éster metílico del ácido {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético y 2 mg (14%) de (R)-1-[4-(2-hidroxi-etoxi)-but-2-inil]-6-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-2-ona.

Ejemplo de Referencia 90

Ácido {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 2, el éster metílico del ácido {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acético (11 mg, 0,028 mmol) se convirtió en 3,8 mg (36%) del compuesto del título.

ES 2 334 374 T3

Ejemplo de Referencia 91

{4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acetonitrilo

5 Etapa 1

(4-Hidroxi-but-2-iniloxi)-acetonitrilo

10 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 7,5 g, 188 mmol) a una solución de 2-butin-1,4-diol (16,1 g, 187 mmol) en THF (150 ml) a 0°C en atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h a 0°C, se añadió lentamente bromoacetonitrilo (8,33 ml, 120 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 22 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl 1 N (150 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (150 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 4,35 g (29%) de (4-hidroxi-but-2-iniloxi)-acetonitrilo.

Etapa 2

20 *(4-Yodo-but-2-iniloxi)-acetonitrilo*

25 Se añadieron secuencialmente trifetilfosfina (10,94 g, 41,7 mmol) y yodo (10,55 g, 41,6 mmol) a una solución de (4-hidroxi-but-2-iniloxi)-acetonitrilo (4,35 g, 34,8 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml). La mezcla de reacción se hizo homogénea después de 5 min a ta y se añadió imidazol (2,76 g, 40,5 mmol) lentamente en pequeñas porciones. Después de 1,5 h a ta, la reacción se filtró a través de alúmina básica de actividad I, lavando con EtOAc al 20%/Hexano. El filtrado se concentró al vacío y después se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna sobre gel de sílice (gradiente de hexano → EtOAc al 10%/hexano) dando 7,51 g (92%) de (4-yodo-but-2-iniloxi)-acetonitrilo.

30 Etapa 3

{4-[(R)-2-(1-Etoxi-etoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acetonitrilo

35 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 600 mg, 15,0 mmol) a una solución de (R)-6-(1-etoxietoximetil)-piperidin-2-ona (del ejemplo 50, etapa 1, 3,00 g, 14,9 mmol) en DMF (20 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió (4-yodo-but-2-iniloxi)-acetonitrilo (3,50 g, 14,9 mmol) en DMF (10 ml) mediante una cánula y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 16,5 h a ta, la reacción se trató con NH₄O acuoso saturado (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (2 x 100 ml) y salmuera (2 x 100 ml) después se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → EtOAc al 50%/CH₂Cl₂) dio 1,83 g (40%) de (4-[(R)-2-(1-etoxi-etoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi)-acetonitrilo.

Etapa 4

45 *[4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acetonitrilo*

50 Se añadió ácido trifluoroacético (0,5 ml, 6,5 mmol) a una solución de {4-[(R)-2-(1-etoxi-etoximetil)-6-oxo-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acetonitrilo (290 mg, 0,94 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml). Después de 1 h a ta, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 3%/CH₂Cl₂) dio 118 mg (53%) de [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acetonitrilo.

55 Etapa 5

[4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acetonitrilo

60 Se añadió EDCI (288 mg, 1,50 mmol) a una solución de [4-((R)-2-hidroximetil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acetonitrilo (118 mg, 0,50 mmol) en benceno (4 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió DMSO (0,14 ml, 2,0 mmol). Después de 5 min a 0°C, se añadió trifluoroacetato de piridinio (106 mg, 0,55 mmol). La reacción se dejó calentar a ta y después se agitó a ta durante 3 h. La solución se decantó del residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 5 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío dando [4-((R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il)-but-2-iniloxi]-acetonitrilo bruto, que se usó sin purificación adicional.

Etapa 6

{4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acetonitrilo

- 5 Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite, 18 mg, 0,45 mmol) a una solución de 2-oxo-3-fenilpropil-fosfonato de dimetilo (110 mg, 0,45 mmol) en THF (1,5 ml) a 0°C. Después de 1 h a 0°C, se añadió una solución de [4-{(R)-2-formil-6-oxo-piperidin-1-il}-but-2-iniloxi]-acetonitrilo (0,50 mmol, bruto de la etapa 5) en THF (1,5 ml) mediante una cánula. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con ácido acético acuoso (50%, 10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (25 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de EtOAc al 10% → 40%/CH₂Cl₂.) dio 75 mg (48%) del compuesto del título.

Ejemplo de Referencia 92

{4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-butoxi}-acetonitrilo

- 20 Se añadió paladio sobre carbón (10% en peso, 7 mg) a una solución de {4-[(R)-2-oxo-6-((E)-3-oxo-4-fenil-but-1-enil)-piperidin-1-il]-but-2-iniloxi}-acetonitrilo (35 mg, 0,10 mmol) en MeOH (3,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 19 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (gradiente de CH₂Cl₂ → MeOH al 2%/CH₂Cl₂) dio 20 mg (56%) del compuesto del título.

25

Ejemplo de Referencia 93

{4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acetonitrilo

30

- Se añadió hidruro de litio y aluminio (1,0 M en THF, 0,02 ml, 0,02 mmol) a una solución de {4-[(R)-2-oxo-6-(3-oxo-4-fenil-butil)-piperidin-1-il]-butoxi}-acetonitrilo (15,7 mg, 0,044 mmol) en THF (0,75 ml) a 0°C. Después 2 h a 0°C la reacción se interrumpió con NH₄O acuoso saturado (5 ml) y se extrajo con (3 x 5 ml). La fase orgánica combinada se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío dando 12,3 mg (78%) del compuesto del título.

35

Ejemplo de Referencia 94

(R)-1-[4-(2-Amino-etoxi)-butil]-6-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-piperidin-2-ona

40

- Se añadió níquel Raney (5 mg) a una solución de {4-[(R)-2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-butoxi}-acetonitrilo (10,5 mg, 0,029 mmol) en MeOH (1,5 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno haciendo el vacío y recargando con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 19 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío dando 6,9 mg (65%) del compuesto del título.

45

Estos compuestos se ensayaron para su actividad *in vitro* como se describe a continuación y los resultados se dan en la Tabla.

50

Receptores de EP₁, EP₂, EP₃, EP₄, FP, TP, IP y DP recombinantes humanos: transfectantes estables

- Los plásmidos que codifican los receptores de EP₁, EP₂, EP₃, EP₄, FP, TP, IP y DP humanos se prepararon clonando las secuencias de codificación respectivas en el vector de expresión eucariota pCEP4 (Invitrogen). El vector pCEP4 contiene un origen de replicación del virus de Epstein Barr (VEB), que permite la replicación episomal en líneas celulares de primate que expresan el antígeno nuclear de VEB (ANEB-1). Contiene también un gen resistente a higromicina que se usa para la selección eucariota. Las células empleadas para la transfección estable eran células de riñón embrionarias humanas (HEK-293) que se transfectaron con y expresan la proteína ANEB-1. Estas células HEK-293-ANEB (Invitrogen) se cultivaron en un medio que contenía Geneticina (G418) para mantener la expresión de la proteína ANEB-1. Las células HEK-293 se cultivaron en DMEM con suero bovino fetal al 10% (FBS), 250 µg ml⁻¹ de G418 (Life Technologies) y 200 µg ml⁻¹ de gentamicina o penicilina/estreptomicina. La selección de transfectantes estables se consiguió con 200 µg ml⁻¹ de higromicina, determinándose la concentración óptima mediante estudios previos de la curva de destrucción con higromicina.

60

- 65 Para la transfección, las células se cultivaron hasta alcanzar una confluencia del 50-60% en placas de 10 cm. El plásmido pCEP4 que incorporaba insertos de ADNc para el receptor prostanoide humano respectivo (20 µg) se añadió a 500 µl de CaCl₂ 250 mM. Después se añadieron solución salina tamponada con HEPES x 2 (2 x HBS, NaCl 280 mM, ácido HEPES 20 mM, Na₂HPO₄ 1,5 mM, pH 7,05-7,12) gota a gota hasta un total de 500 µl, con formación de

vórtice continua a temperatura ambiente. Después de 30 min, se añadieron 9 ml de DMEM a la mezcla. La mezcla de ADN/DMEM/fosfato cálcico se añadió después a las células, que se habían aclarado previamente con 10 ml de PBS. Las células se incubaron después durante 5 h a 37°C en aire humidificado al 95%/CO₂ al 5%. La solución de fosfato cálcico se retiró después y las células se trataron con glicerol al 10% en DMEM durante 2 min. La solución de glicerol se substituyó después por DMEM con FBS al 10%. Las células se incubaron durante una noche y el medio se substituyó por DMEM/FBS al 10% que contenía 250 µg ml⁻¹ de G418 y penicilina/estreptomicina. El siguiente día se añadió higromicina B a una concentración final de 200 µg ml⁻¹.

Diez días después de la transfección, los clones resistentes a higromicina B se seleccionaron individualmente y se transfirieron a un pocillo diferente de una placa de 24 pocillos. Cuando alcanzó la confluencia cada clon se transfirió a un pocillo de una placa de 6 pocillos, y después se expandió en un platillo de 10 cm. Las células se mantuvieron bajo una selección continua de higromicina hasta su uso.

Unión A radioligando

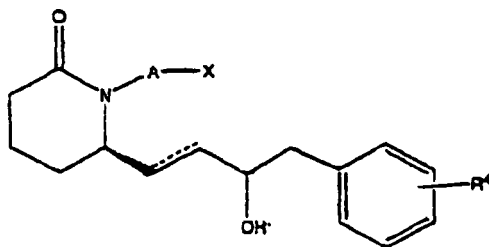
Se realizaron estudios de unión a radioligando sobre fracciones de membrana plasmática preparadas a partir de células de la siguiente manera. Las células lavadas con tampón TME se rasparon del fondo de los matraces y se homogeneizaron durante 30 s usando un politrón Brinkman PT10/35. El tampón TME se añadió según fue necesario para conseguir un volumen de 40 ml en los tubos de la centrífuga. TME está compuesto por base TRIS 50 mM, MgCl₂ 10 mM, EDTA 1 mM; el pH de 7,4 se consigue añadiendo HCl 1 N. El homogenado celular se centrifugó a 19.000 rpm durante 20-25 min a 4°C usando un rotor Beckman Ti-60 o Ti-70. El sedimento se resuspendió después en tampón TME proporcionando una concentración de proteína final de 1 mg/ml, determinada por un ensayo Bio-Rad. Los ensayos de unión a radioligando se realizaron en un volumen de 100 µl o de 200 µl.

La unión de [³H] PGE₂ (actividad específica 165 Ci/mmol) se determinó por duplicado y en al menos 3 experimentos diferentes. Las incubaciones se realizaron durante 60 min a 25°C y se terminaron mediante la adición de 4 ml de TRIS-HCl 50 mM enfriado con hielo seguido de filtración rápida a través de filtros Whatman GF/B y tres lavados adicionales de 4 ml en un recolector de células (Brandel). Se realizaron estudios de competición usando una concentración final de [³H] PGE₂ de 2,5 o 5 nM y la unión no específica se determinó con PGE₂ 10⁻⁵ M no marcado. Para todos los estudios de unión de radioligando, los criterios para la inclusión fueron >50% de unión específica y entre 500 y 1000 recuentos desplazables o mejor.

Los resultados de la Figura 1 sugieren que los compuestos descritos en el presente documento son agonistas selectivos EP4 y, por lo tanto, serán útiles para usarlos en un procedimiento de tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino en un mamífero, comprendiendo dicho compuesto

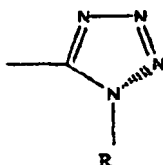


o una sal o a profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo;

en la que la línea de puntos representa la presencia o ausencia de un doble enlace;

A es $-(CH_2)_6-$,

X es CO_2R , $CONR_2$, CH_2OR , $P(O)(OR)_2$, $CONRSO_2R$, SO_2NR_2 o

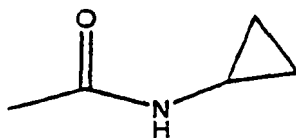


R es H o R^2 ;

R^2 es alquilo inferior C_1 - C_5 o alqueniilo y R^2 se selecciona entre el grupo constituido por R^2 , fenilo, tienilo, furanilo, piridilo, benzotienilo, benzofuranilo, naftilo o derivados sustituidos de los mismos, en los que los sustituyentes pueden seleccionarse entre el grupo constituido por alquilo C_1 - C_5 , halógeno, CF_3 , CN, NO_2 , NR_2 , CO_2R y OR y

R^4 se selecciona entre el grupo constituido por H, alquilo C_1 - C_5 , halógeno, CF_3 , CN, NO_2 , NR_2 , CO_2R y OR.

2. El uso de la reivindicación 1 en el que X en dicho compuesto es $CONR_2$, $CONMe_2$, $CONHMe$, $CONHEt$, $CON(OCH_3)CH_3$, $CONH_2$, $CON(CH_2CH_2OH)_2$, $CONH(CH_2CH_2OH)$, $CONHSO_2CH_3$, SO_2NH_2 , $SO_2N(CH_3)_2$, $SO_2NH(CH_3)$, o



3. Uso de la reivindicación 1 en el que dicho compuesto se selecciona entre el grupo constituido por

éster metílico del ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

ácido 7-[2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

éster metílico del ácido 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

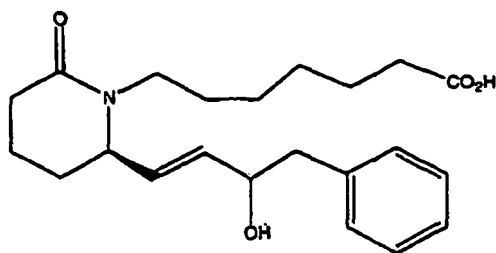
ácido 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico,

amida del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico, y

éster isopropílico del ácido 7-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-6-oxo-piperidin-1-il]-heptanoico.

4. Uso de la reivindicación 1, comprendiendo dicho compuesto

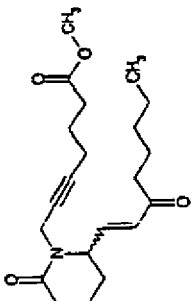
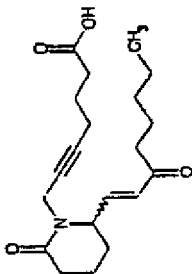
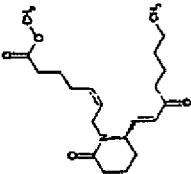
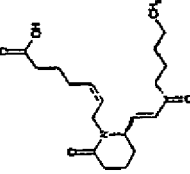


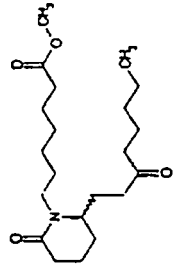
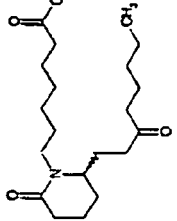
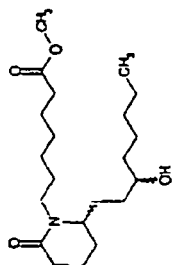
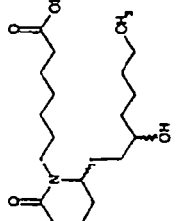
o una sal o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

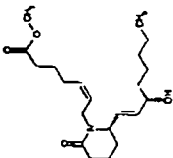
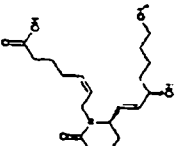
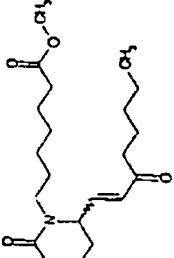
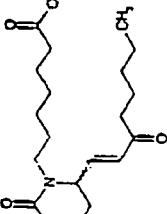
5. Uso de la reivindicación 1 en el que dicha enfermedad del intestino irritable es la enfermedad de Crohn.

6. Uso de la reivindicación 1 en el que dicha enfermedad del intestino irritable es colitis ulcerosa.

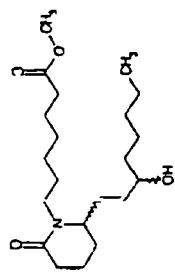
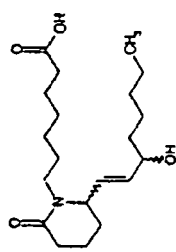
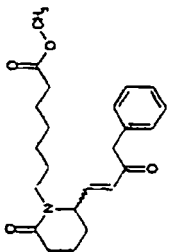
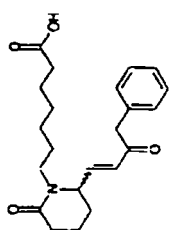
Figura 1

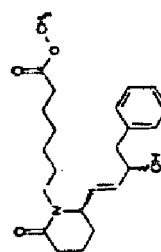
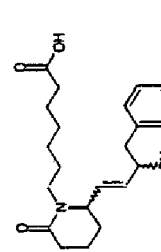
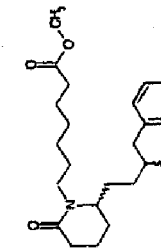
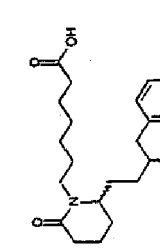
Estructura	hEP2	hEP3D	hEP4	hFP	hEP1	hEP2	hEP3A	hEP4	hTP	hIP	hDP
				NA	NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA
				NA	NA	NA	NA	NA	653	NA	NA
				NA	NA	NA	NA	NA	2474	NA	NA
				NA	NA	NA	NA	10000	88	NA	NA

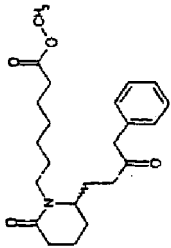
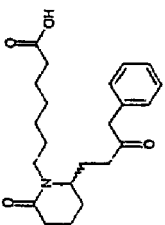
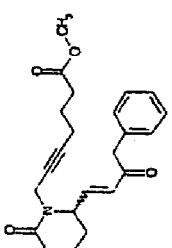
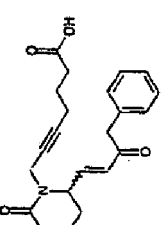
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	565	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	1842	>10000	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	99	449	NA	NA

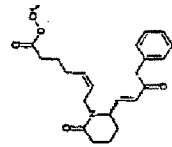
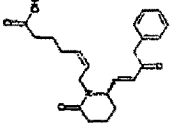
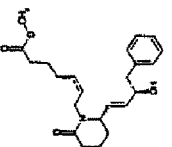
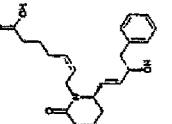
	NA	NA	NA	NA	815	>10000	NA	NA
	440	NA	>10000	NA	46	141	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	1290	238	NA	NA

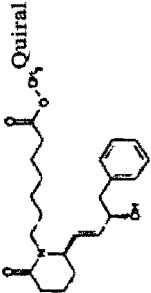
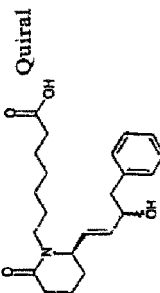
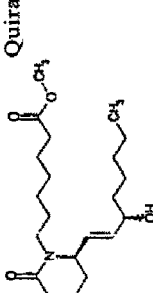
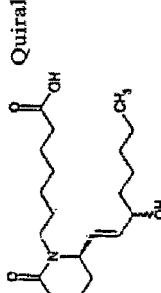
NA

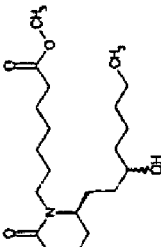
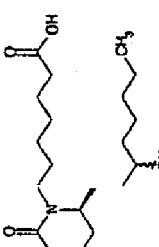
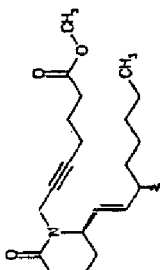
	NA	NA	NA	243	NA	NA	NA
	NA	NA	10	424	>10000	NA	NA
	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
	NA	NA	>10000	207	NA	NA	NA

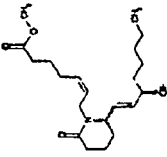
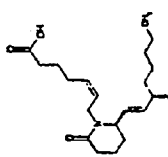
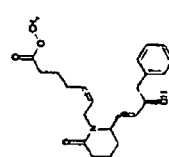
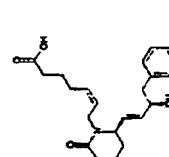
	NA	2200	NA	NA	NA	NA	NA	34	NA	NA	NA
	NA	65	NA	NA	NA	NA	NA	3	2126	NA	NA
	NA	>10000	NA	NA	NA	NA	NA	863	>10000	NA	NA
	>10000	1400	NA	NA	NA	NA	NA	138	215	NA	NA

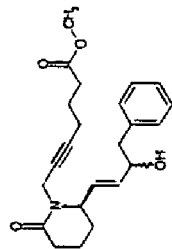
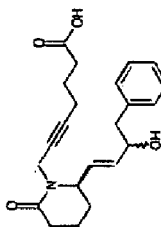
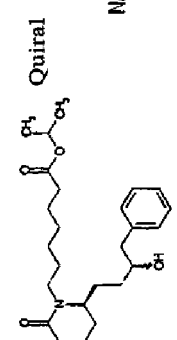
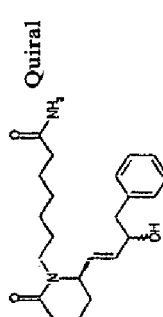
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	218	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	680	NA	NA	NA

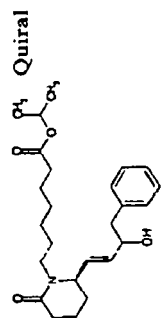
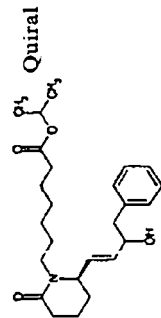
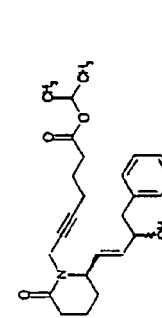
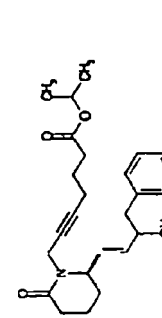
	NA	NA	NA	NA	NA	4911	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	3400	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	130	NA	NA	NA
	NA	NA	464	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
	NA	NA	8	NA	NA	597	NA	NA	NA

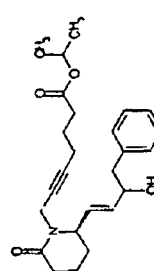
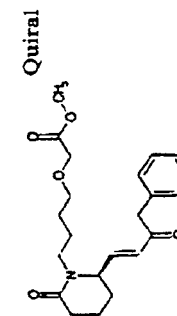
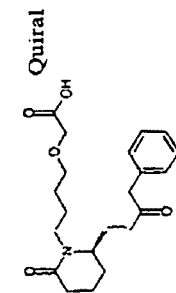
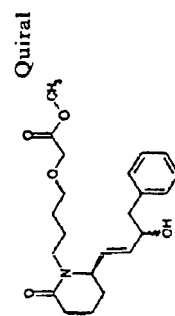
	NA	>10000	4500	NA	NA	NA	NA	274	NA	NA
	NA	NA	6500	NA	NA	NA	NA	0.56	NA	NA
	NA	>10000	6500	NA	NA	NA	NA	385	NA	NA
	NA	>10000	>10000	NA	NA	NA	NA	10.4	>10000	NA

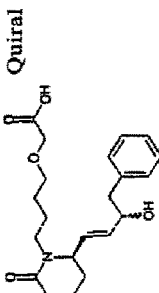
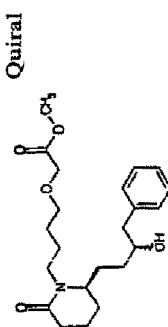
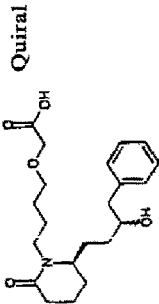
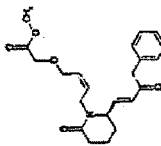
	Quiral	NA	>10000	NA	NA	NA	NA	NA	2893	NA	NA	NA
	Quiral	>10000	NA	2500	NA	NA	NA	NA	481	NA	NA	NA
					NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
					NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA

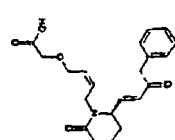
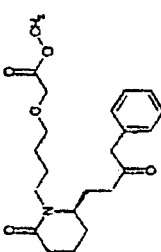
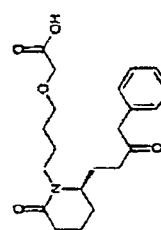
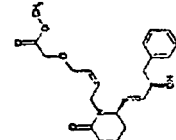
	NA	NA	6000	NA	NA	NA	NA	NA	649	NA	NA	NA
	NA	NA	270	NA	NA	NA	NA	>10000	16.5	>10000	NA	NA
	NA	NA	4600	NA	NA	NA	NA	NA	593	NA	NA	NA
	NA	NA	150	NA	NA	NA	NA	NA	8.5	NA	NA	NA

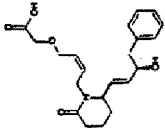
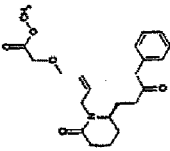
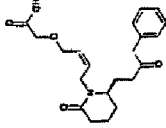
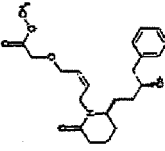
	NA	NA	>10000	NA	NA	NA	NA	NA	3119	NA	NA	NA
	NA	NA	1000	NA	NA	NA	NA	NA	81	NA	NA	NA
	NA	NA	2800	NA	NA	NA	NA	NA	246	NA	NA	NA
	NA	NA	55	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA	NA	NA

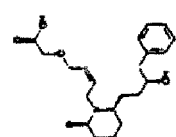
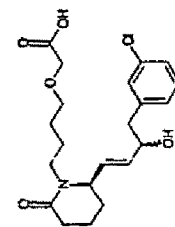
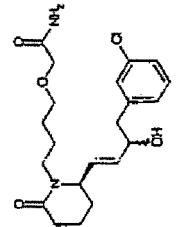
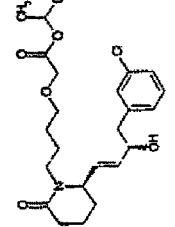
	NA	NA	NA	164	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	339	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	>10000
	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA

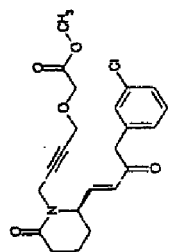
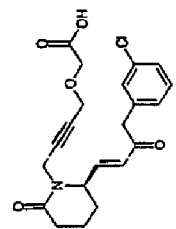
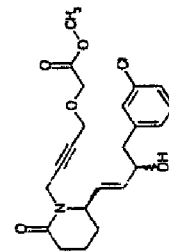
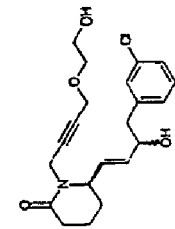
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

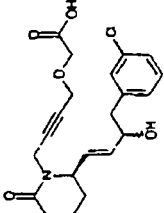
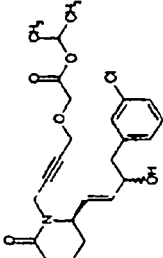
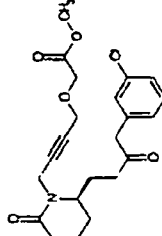
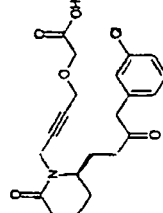
	NA	NA	2300	NA	NA	NA	NA	NA	145	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

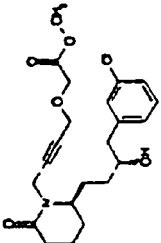
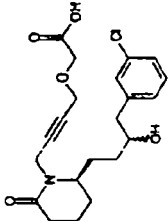
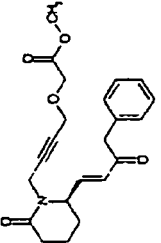
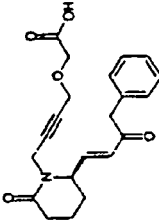
	NA	NA	NA	2556	>10000	NA	NA
	NA	NA	NA	7542	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	1975	>10000	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

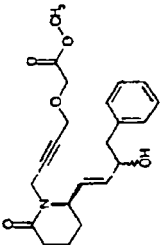
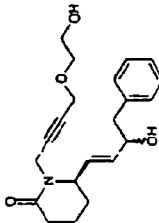
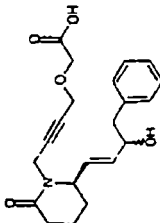
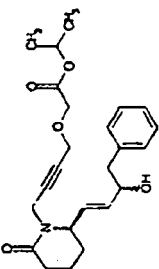
	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

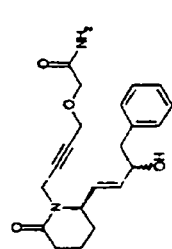
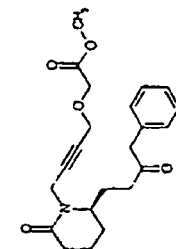
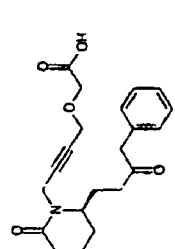
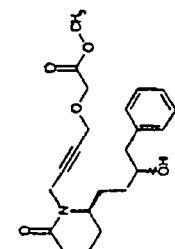
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	>10000	NA	NA	NA	661	NA
	NA	>10000	NA	NA	NA	>10000	NA
	NA	58	NA	NA	NA	NA	NA

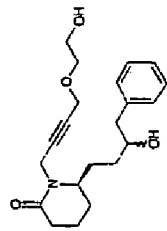
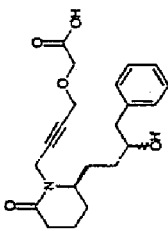
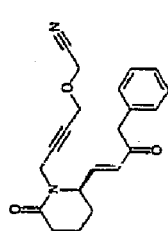
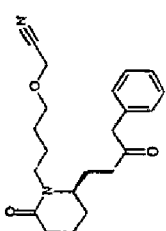
	NA	NA	NA	NA	1672	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	96	184	NA
	NA	NA	NA	NA	1868	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	4553	NA	NA

	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

			
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
22523	640	NA	3147
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	2672	NA	3256
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA

	NA	NA	NA	>10000	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	2709	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

	NA	NA	NA	108	NA	NA	NA
	NA	NA	>10000	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

ES 2 334 374 T3

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

NA

