



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 818 254**

⑮ Int. Cl.:

**C07D 401/12** (2006.01)  
**C07D 471/08** (2006.01)  
**A61K 31/496** (2006.01)  
**A61P 25/02** (2006.01)  
**A61P 25/24** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- ⑧6 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.10.2016 PCT/US2016/056714**  
⑧7 Fecha y número de publicación internacional: **20.04.2017 WO17066366**  
⑨6 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2016 E 16790475 (4)**  
⑨7 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2020 EP 3362441**

---

⑮ Título: **Antagonistas selectivos de NR2B**

⑩ Prioridad:

**14.10.2015 IN 3308DE2015**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**09.04.2021**

⑯ Titular/es:

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

⑯ Inventor/es:

**ISLAM, IMADUL;**  
**THANGATHIRUPATHY, SRINIVASAN;**  
**WARRIER, JAYAKUMAR SANKARA;**  
**CHERUKU, SRINIVAS;**  
**SHETTY, POORNIMA;**  
**GUPTA, GRANDHI VENKAT RAM KRISHNA**  
**MOHAN y**  
**MACOR, JOHN E.**

⑯ Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 818 254 T3**

---

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

**DESCRIPCIÓN**

Antagonistas selectivos de NR2B

5 **Referencia cruzada a solicitud relacionada**

La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de la India número de serie 3308/DEL/2015 presentada el 14 de octubre de 2015.

10 **Campo técnico**

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

15 **Antecedentes**

Los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) son canales iónicos que se abren mediante la unión de glutamato, un neurotransmisor excitador en el sistema nervioso central. Se cree que desempeñan una función clave en el desarrollo 20 de una serie de enfermedades neurológicas, incluyendo la depresión, el dolor neuropático, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson. Los receptores de NMDA funcionales son estructuras tetraméricas compuestas principalmente por dos subunidades NR1 y dos NR2. La subunidad NR2 se subdivide a su vez en cuatro subtipos individuales: NR2A, NR2B, NR2C y NR2D, que se distribuyen de forma diferente en todo el cerebro. Se han investigado antagonistas o moduladores alostéricos de receptores de NMDA, en particular canales que contienen la subunidad 25 NR2B, como agentes terapéuticos para el tratamiento del trastorno depresivo mayor (G. Sanacora, 2008, *Nature Rev. Drug Disc.* 7: 426-437).

El receptor NR2B contiene sitios de unión a ligando adicionales, además del sitio para el glutamato. Los antagonistas 30 no selectivos de NMDA tales como la Ketamina son bloqueantes de poros, interfiriendo con el transporte de  $\text{Ca}^{++}$  a través del canal. La ketamina ha demostrado propiedades antidepresivas rápidas y duraderas en ensayos clínicos con seres humanos como fármaco intravenoso. Adicionalmente, la eficacia se mantuvo con infusiones repetidas e intermitentes de Ketamina (Zarate *et al.*, 2006, *Arch. Gen. Psychiatry* 63: 856-864). Esta clase de fármacos, sin embargo, tiene un valor terapéutico limitado debido a sus efectos secundarios en el SNC, incluyendo los efectos disociativos.

35 también se ha identificado un sitio de unión alostérico, no competitivo, en el dominio N-terminal de NR2B. Los agentes que se unen selectivamente a este sitio, tales como el Traxoprodil, presentaron una respuesta antidepresiva sostenida y un mejor perfil de efectos secundarios en ensayos clínicos con seres humanos como fármaco intravenoso (Preskorn *et al.*, 2008, *J. Clin. Psychopharmacol.*, 28: 631-637 y F. S. Menniti, *et al.*, 1998, *CNS Drug Reviews*, 4, 4, 307-322). 40 Sin embargo, el desarrollo de fármacos de esta clase se ha visto obstaculizado por la baja biodisponibilidad, la farmacocinética deficiente y la falta de selectividad frente a otras dianas farmacológicas, incluyendo el canal iónico hERG. El bloqueo del canal iónico hERG puede conducir a arritmias cardíacas, incluyendo la potencialmente fatal *Torsade de pointes*, por lo que la selectividad contra este canal es crítica. Por tanto, en el tratamiento del trastorno depresivo mayor, sigue existiendo la necesidad clínica insatisfecha de desarrollar moduladores alostéricos negativos 45 selectivos de NR2B eficaces que tengan un perfil de tolerancia favorable.

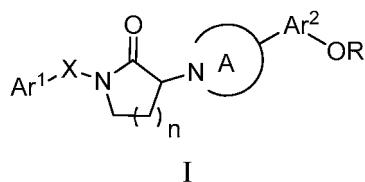
Se han desvelado antagonistas de los receptores NR2B en la Publicación PCT WO 2009/006437.

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

55 **Sumario**

La invención se define como en las reivindicaciones adjuntas.

En una primera realización, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula I

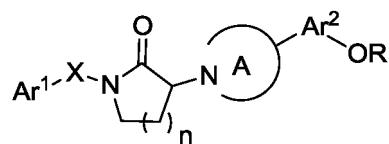


donde:

- 5      Ar<sup>1</sup> es fenilo y está sustituido con 0-3 sustituyentes seleccionados entre ciano, halo, alquilo, haloalquilo y haloalcoxi;  
 Ar<sup>2</sup> es piridinilo o pirimidinilo, y está sustituido con 1 sustituyente OR y con 0-2 sustituyentes halo o alquilo;  
 R es hidrógeno o un resto de profármaco seleccionado entre el grupo que consiste en ésteres alquílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de alquitrán, ácidos fosfónicos, alquil ésteres fosfónicos, ácido alcoxifosfonato, alquil ésteres de alcoxifosfonato, carbamatos de alquilo,  
 10     carbamatos de aminoácidos, fosforamidatos de alquilo, fosforamidatos de arilo y sulfamatos;  
 X es un enlace o alquíleno C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>; n es 1 o 2;  
 el anillo A es piperazinilo, homopiperazinilo o 2,5-diazabiciclo[2.2.1]heptanos, piperazin-2-ona y está sustituido con 0-4 sustituyentes seleccionados entre halo, alquilo, hidroxi o alcoxi;  
 15     o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

#### Descripción

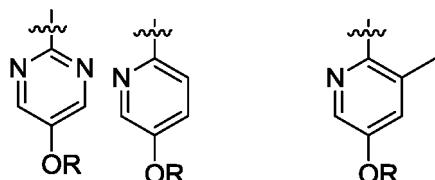
20     Se entenderá que cualquier realización de ejemplo proporcionada puede combinarse con una o más realizaciones de ejemplo adicionales.  
 A menos que se especifique otra cosa, estos términos tienen los siguientes significados. "Alquilo" significa un grupo alquilo lineal o ramificado compuesto por 1 a 6 carbonos. "Alquenilo" significa un grupo alquilo lineal o ramificado compuesto por 2 a 6 carbonos con al menos un doble enlace. "Alquinilo" significa un grupo alquilo lineal o ramificado compuesto por 2 a 6 carbonos con al menos un triple enlace. "Cicloalquilo" significa un sistema anular monocíclico compuesto por 3 a 7 carbonos. Los términos con un resto hidrocarburo (por ejemplo, alcoxi) incluyen isómeros lineales y ramificados para la porción de hidrocarburo. "Halo" incluye flúor, cloro, bromo y yodo. "Haloalquilo" y "haloalcoxi" incluyen todos los isómeros halogenados de monohalo a perhalo. "Arilo" significa un grupo hidrocarburo aromático monocíclico o bicíclico que tiene de 6 a 12 átomos de carbono, o un sistema anular condensado bicíclico en el que uno o ambos anillos son un grupo fenilo. Los sistemas de anillo bicíclico condensados consisten en un grupo fenilo condensado a un anillo carbocíclico aromático o no aromático de cuatro a seis miembros. Los ejemplos representativos de grupos arilo incluyen, pero sin limitación, indanilo, indenilo, naftilo, fenilo y tetrahidronaftilo. "Heteroarilo" significa un sistema anular aromático monocíclico de 5 a 7 miembros o bicíclico de 8 a 11 miembros con 1-5 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los términos parentético y multiparentético tienen por objeto aclarar las relaciones de enlace a los expertos en la materia. Por ejemplo, un término tal como ((R)alquilo) significa un sustituyente alquilo adicionalmente sustituido con el sustituyente R.  
 La invención incluye todas las formas de sal farmacéuticamente aceptables de los compuestos. Las sales farmacéuticamente aceptables son aquellas en las que los contraíones no contribuyen significativamente a la actividad fisiológica o a la toxicidad de los compuestos y, como tales, funcionan como equivalentes farmacológicos. Estas sales pueden prepararse de acuerdo con técnicas orgánicas comunes que emplean reactivos disponibles en el mercado.  
 40     Algunas formas de sales aniónicas incluyen acetato, acistrato, besilato, bromuro, cloruro, citrato, fumarato, glucuronato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, yoduro, lactato, maleato, mesilato, nitrato, pamoato, fosfato, succinato, sulfato, tartrato, tosilato y xinofoato. Algunas formas de sales catiónicas incluyen amonio, aluminio, benzatina, bismuto, calcio, colina, dietilamina, dietanolamina, litio, magnesio, meglumina, 4-fenilciclohexilamina, piperazina, potasio, sodio, trometamina y cinc. Algunos compuestos de Fórmula I contienen al menos un átomo de carbono asimétrico, un ejemplo de lo cual se muestra a continuación. La invención incluye todas las formas farmacéuticamente aceptables de los compuestos, isómeros tanto mezclados como separados. Las mezclas de estereoisómeros pueden separarse en isómeros individuales mediante métodos conocidos en la técnica. Los compuestos incluyen todas las formas tautoméricas.  
 45     La invención pretende incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio. Los isótopos de carbono incluyen <sup>13</sup>C y <sup>14</sup>C. Los compuestos de la invención marcados isotópicamente pueden prepararse en general mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos en el presente documento, usando un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar del reactivo no marcado empleado de otro modo. Dichos compuestos pueden tener una diversidad de usos potenciales, por ejemplo, como patrones y reactivos para determinar la actividad biológica. En el caso de los isótopos estables, dichos compuestos pueden tener el potencial de modificar favorablemente las propiedades biológicas, farmacológicas o farmacocinéticas.  
 50     Las abreviaturas utilizadas en la presente solicitud son bien conocidas por los expertos en la materia.  
 Un aspecto de la invención es un compuesto de fórmula I



I

donde:

- 5 Ar<sup>1</sup> es fenilo y está sustituido con 0-3 sustituyentes seleccionados entre ciano, halo, alquilo, haloalquilo y haloalcoxi;
- X es un enlace o alquíleno C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;
- n es 1 o 2;
- el anillo A es piperazinilo, homopiperazinilo o 2,5-diazabiciclo[2.2.1]heptanos,
- 10 piperazin-2-ona y está sustituido con 0-4 sustituyentes seleccionados entre halo, alquilo, hidroxi o alcoxi;
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- y donde Ar<sup>2</sup> se selecciona entre

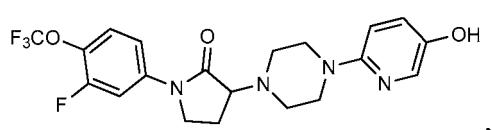
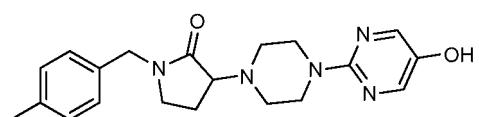
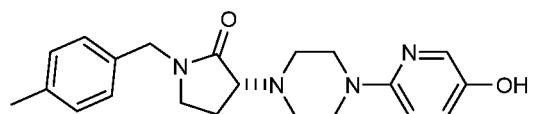
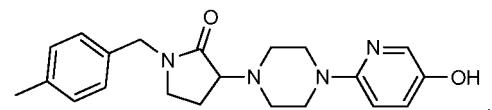
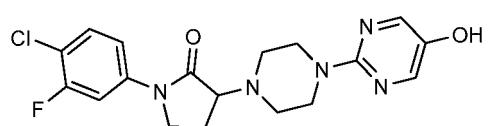


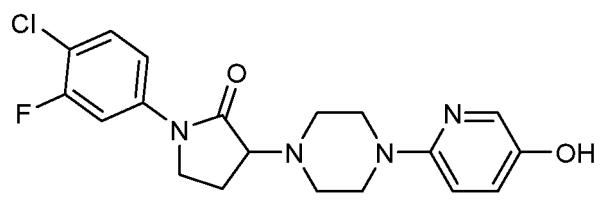
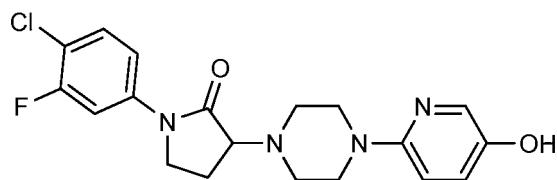
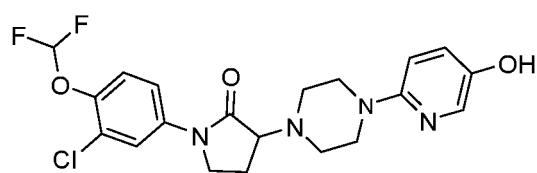
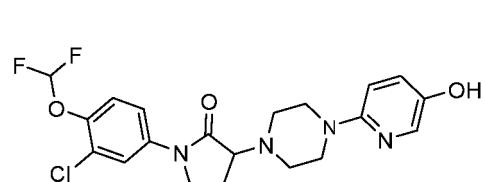
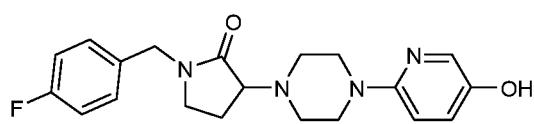
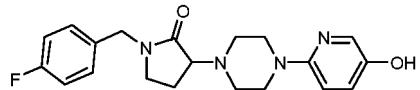
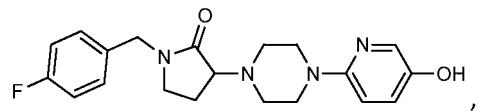
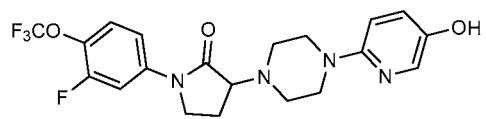
- 15 y R se selecciona entre hidrógeno, ésteres de aminoácidos, ácidos fosfónicos, ácido alcoxifosfonato, , carbamatos de alquilo, carbamatos de aminoácidos, fosforamidatos de alquilo, fosforamidatos de arilo y sulfamatos.

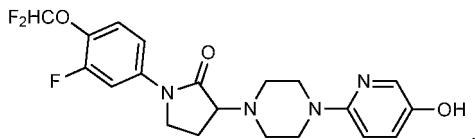
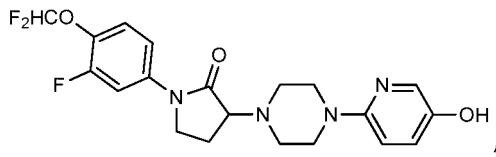
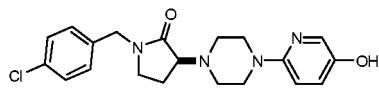
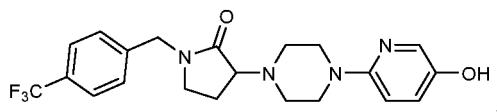
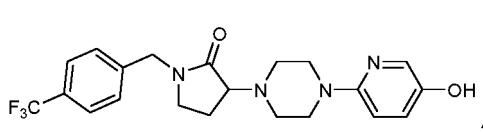
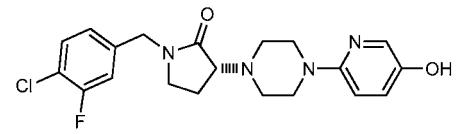
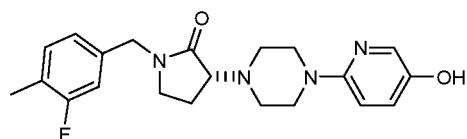
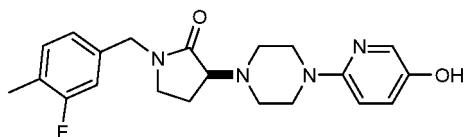
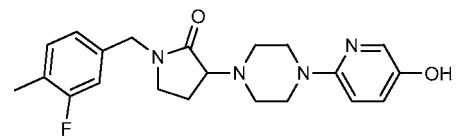
Otro aspecto de la invención es un compuesto de fórmula I donde X es metileno.

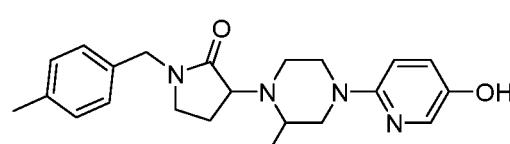
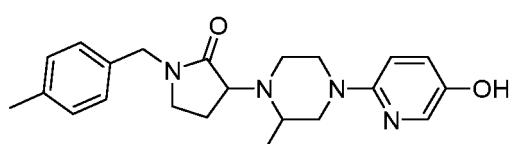
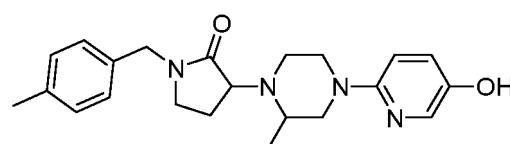
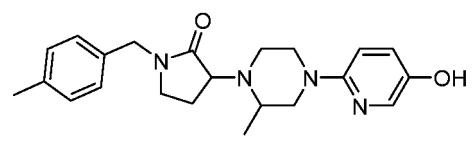
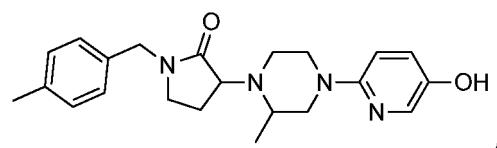
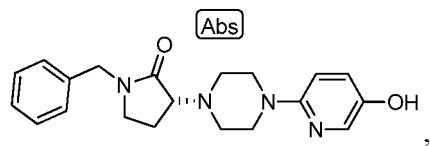
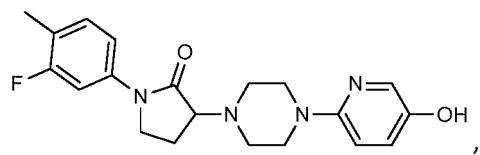
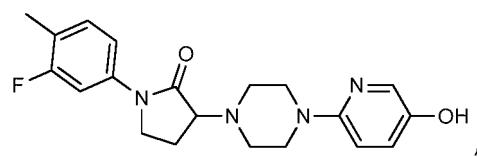
- 20 Otro aspecto de la invención es un compuesto de fórmula I donde R es hidrógeno. Otro aspecto de la invención es un compuesto de fórmula I donde R es P(=O)(OH)<sub>2</sub>.

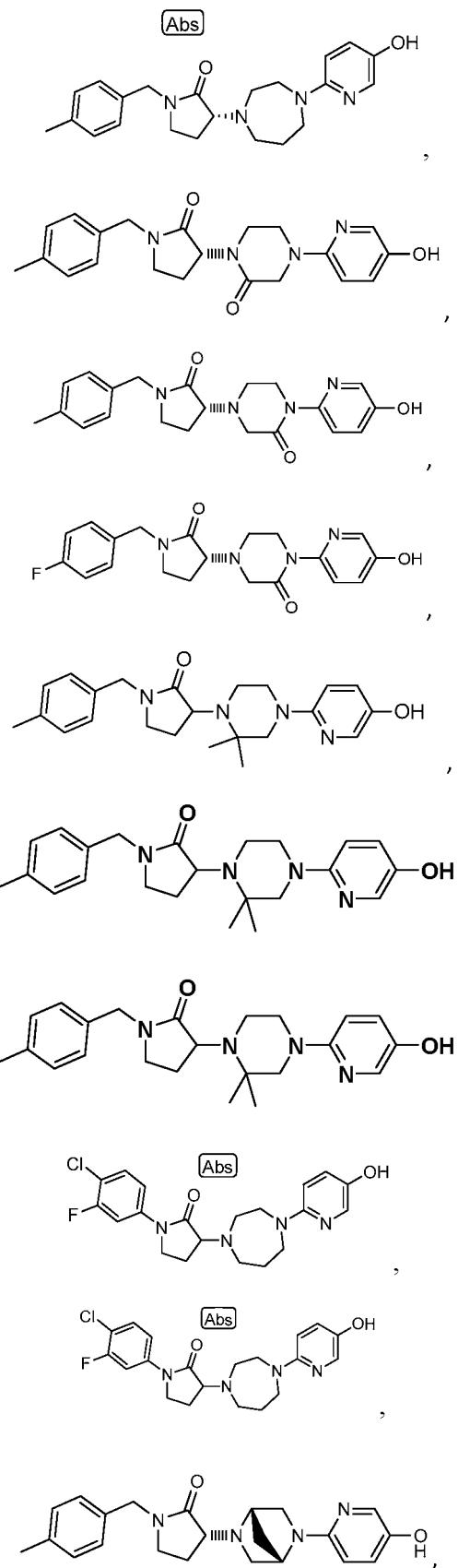
- 25 Otro aspecto de la invención es un compuesto de fórmula I seleccionado entre el grupo que consiste en:

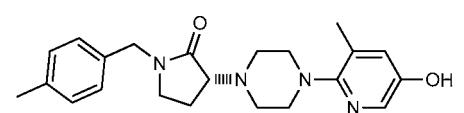
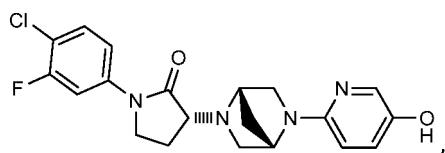
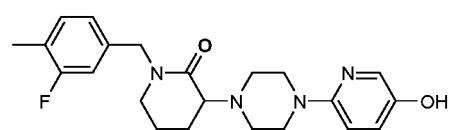
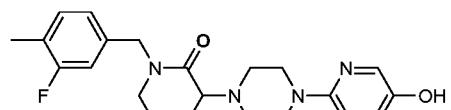
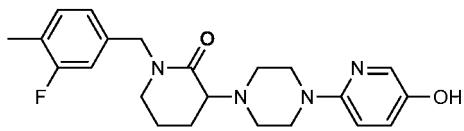
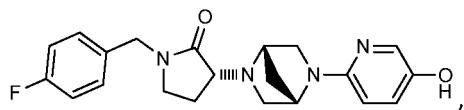




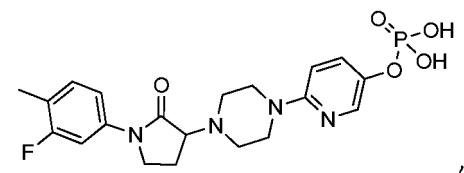








y



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 En un segundo aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- En un tercer aspecto, la invención se refiere a un compuesto para su uso en un método para el tratamiento de la depresión, la enfermedad de Alzheimer, el dolor neuropático o la enfermedad de Parkinson, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I.
- 25 En una segunda realización del tercer aspecto, el compuesto de fórmula I se refiere al tratamiento de la depresión.
- En una tercera realización del tercer aspecto, el compuesto de fórmula I se refiere al tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
- En una cuarta realización del tercer aspecto, el compuesto de fórmula I se refiere al tratamiento del dolor neuropático.

### Ejemplos

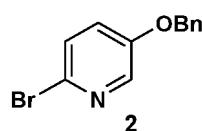
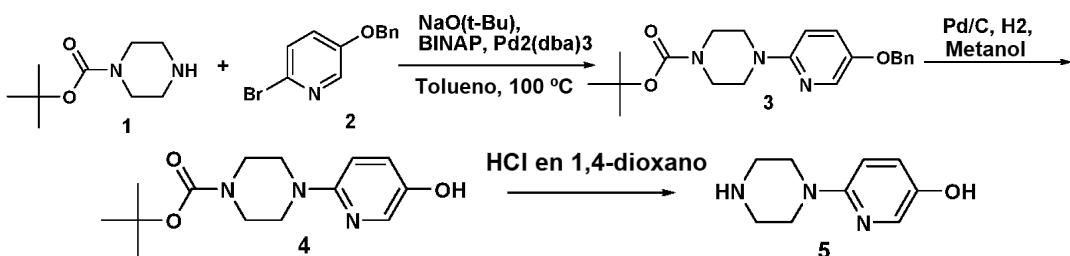
- 30 La presente divulgación se describirá ahora en relación con determinadas realizaciones que no pretenden limitar su

alcance. Por el contrario, la presente divulgación abarca todas las alternativas, modificaciones y equivalentes que puedan incluirse dentro del alcance de las reivindicaciones. Por tanto, los siguientes ejemplos, que incluyen realizaciones específicas, ilustrarán una práctica de la presente divulgación, entendiéndose que los ejemplos tienen fines ilustrativos de determinadas realizaciones y se presentan para proporcionar lo que se considera la descripción más útil y de más fácil comprensión de sus procedimientos y aspectos conceptuales.

5 Los compuestos de la presente divulgación pueden prepararse usando las reacciones y técnicas que se describen en esta sección, así como, otros métodos de síntesis conocidos por expertos habituales en la materia. Las reacciones se realizan en disolventes apropiados para los reactivos y materiales empleados y adecuados para la transformación que se efectúa. Además, en la descripción de los métodos de síntesis que se describen a continuación, se entenderá que 10 todas las condiciones de reacción propuestas, incluyendo la elección de disolventes, temperatura de reacción, duración del experimento y procedimientos de elaboración, se escogen para que sean las condiciones convencionales para esa reacción, lo que debe reconocer fácilmente un experto en la materia. Un experto en la materia de la síntesis orgánica entenderá que la funcionalidad presente en diversas porciones de la molécula debe ser compatible con los 15 reactivos y reacciones propuestos. Dichas restricciones a los sustituyentes que son compatibles con las condiciones de reacción serán fácilmente evidentes para un experto en la materia y deben usarse entonces métodos alternativos. En una realización preferida de la invención, la síntesis de los compuestos de la presente divulgación puede exponerse en las siguientes representaciones esquemáticas.

Esquema 1:

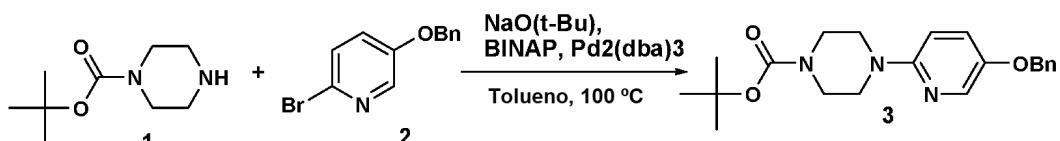
20



- El compuesto 2 se preparó con referencia a:  
Patente: WO2010/28776 A1, 2010

25

#### Etapa 1: 4-(5-(benciloxi)piridin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo

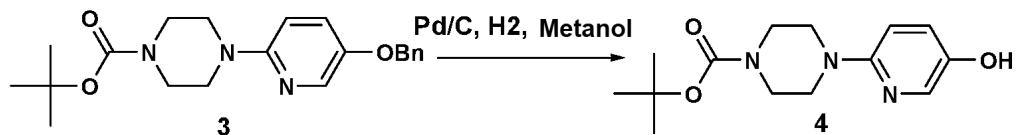


30 A una solución agitada de piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,99 g, 32,2 mmol) en tolueno (100 ml) se le añadió 5-(benciloxi)-2-bromopiridina (8,5 g, 32,2 mmol), *TERC*-BUTÓXIDO DE SODIO (7,73 g, 80 mmol) y BINAP (4,01 g, 6,44 mmol) a TA y la mezcla de reacción se purgó con N2 durante 15 min, seguido de la adición de Pd2(dba)3 (2,95 g, 3,22 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con acetato de etilo (200 ml); el filtrado se concentró para retirar el acetato de etilo y el tolueno. Al residuo se le añadió agua (250 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (3\*100 ml), la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró para obtener 20 g en bruto. El producto en bruto se purificó mediante ISCO usando una columna de gel de sílice de 120 g, el producto se eluyó con acetato de etilo al 40 % en pet éter para obtener 4-(5-(benciloxi)piridin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (5 g, 12,99 mmol, rendimiento del 40,4 %) en forma de un sólido de color amarillo.

35 **CLEM:** Tampón: Acetato de Amonio 10 mM ajustado a pH -5 con HCOOH, Fase móvil A:Tampón:ACN (95:5), Fase móvil B:Tampón:ACN (5:95), Método: % de B: Omin-5 %: 1,1 min -95 %: 1,7 min-95 % Nombre de la columna: Acquity BEH C18 (2,1 x 50 mm) 1,7 u Método: C:\MassLynx, Flujo: 0,8 ml/min, TR - 1,28 min, M(+1)-370.

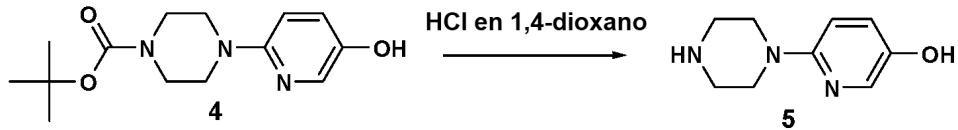
40

#### Etapa 2: 4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo



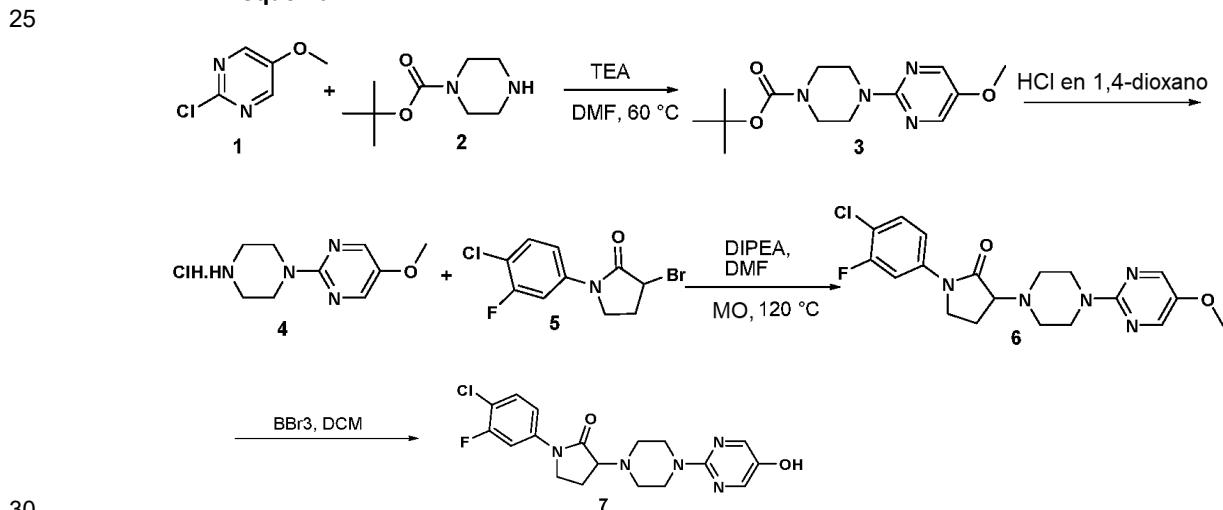
- 5 A una solución agitada de 4-(5-(bencloxi)piridin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,00 g, 5,41 mmol) en metanol (10 ml) se le añadió Pd/C (0,576 g, 5,41 mmol), la mezcla se agitó a la presión de un fuelle de hidrógeno a través de una curva de vacío y se agitó a TA durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró para obtener 4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,4 g, 5,01 mmol, rendimiento del 93 %) en forma de un material gomoso de color marrón.
- 10 **CLEM:** % de B: Omin-2 %: 1,0min -98 %: 1,6min-98 %, Fase móvil B: Acetonitrilo, Fase móvil A: TFA al 0,1 % en agua, Método: C:\N-MassLynx, TR - 0,64 min, M(+I)-280.

**Etapa 3: 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol, HCl.**

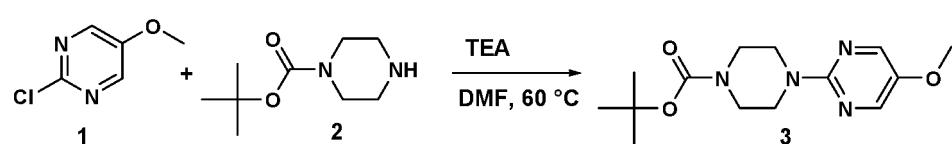


- 15 A una solución agitada de 4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,5 g, 5,37 mmol) en 1,4-Dioxano (15 ml) se le añadió HCl 4 M en 1,4-dioxano (5 ml, 5,37 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 horas. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se concentró para obtener 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol, HCl (1 g, 4,08 mmol, rendimiento del 76 %) en forma de un sólido de color blanco.
- 20 **CLEM:** Tampón: Acetato de Amonio 10 mM ajustado a pH -5 con HCOOH, Fase móvil A:Tampón:ACN (95:5), Fase móvil B:Tampón:ACN (5:95), Método: % de B: Omin-5 %: 1,1 min -95 %: 1,7 min-95 % Nombre de la columna: Acquity BEH C18 (2,1 x 50 mm) 1,7 u Método: C:\MassLynx, Flujo: 0,8 ml/min, TR - 0,35 min, M(+I)-180.

**Esquema 2:**



**Etapa 1: 4-(5-metoxipirimidin-2-il) piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo**

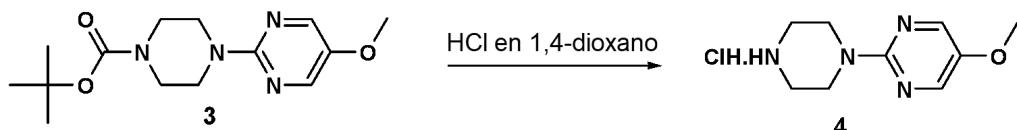


- 35 A una solución agitada de 2-cloro-5-metoxipirimidina (1 g, 6,92 mmol) en DMF (20 ml) se le añadió piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,2 g, 6,44 mmol) y TEA (3 ml, 21,52 mmol) en un tubo sellado. La mezcla se agitó a 60 °C durante 48 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. El disolvente se retiró a presión reducida para obtener un residuo en bruto, que se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua (2\*100 ml), la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhídrido, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener un producto en bruto (1,5 g) en forma de un líquido de color marrón. El compuesto en bruto se purificó mediante combi (columna de gel de

sílice de 24 g, eluida con acetato de etilo al 15 %/éter de petróleo) para obtener 4-(5-metoxipirimidin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (550 mg, 1,738 mmol, rendimiento del 25,1 %) en forma de un sólido de color blanco.

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR de CLEM = 2,2 min M(+1) - 295.

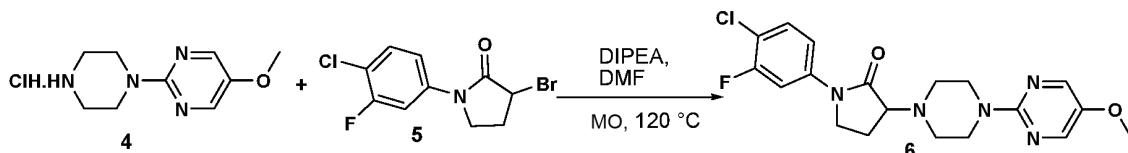
5 **Etapa 2:**



A una solución agitada de 4-(5-metoxipirimidin-2-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (330 mg, 1,121 mmol) en 1,4-Dioxano (10 ml) a 0 °C se le añadió HCl en 1,4 dioxano (1,121 ml, 1,121 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. La finalización de la reacción se controló a través de CLEM. El disolvente se retiró a presión reducida para obtener un compuesto en bruto que se trituró con acetato de etilo (2\*10 ml) y el sólido obtenido se filtró para obtener clorhidrato de 5-metoxi-2-(piperazin-1-il)pirimidina (200 mg, 0,607 mmol, rendimiento del 54,1 %) en forma de un sólido de color blanco.

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 0,946 min, M (+1) - 195.

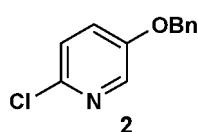
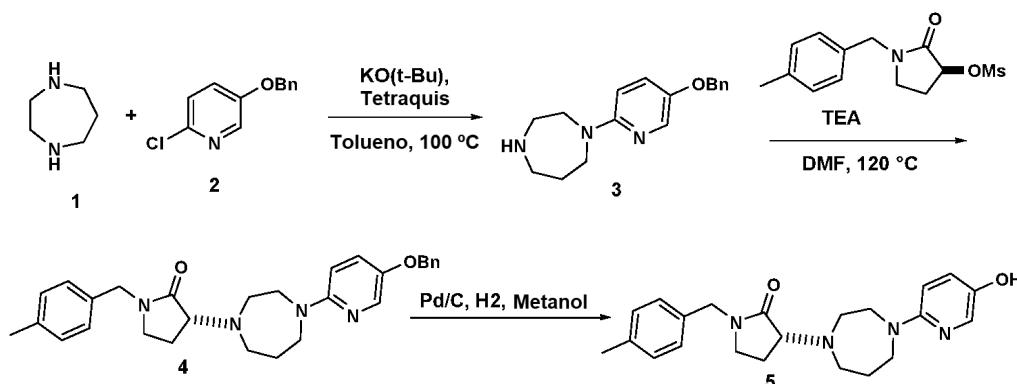
Etapa 3:



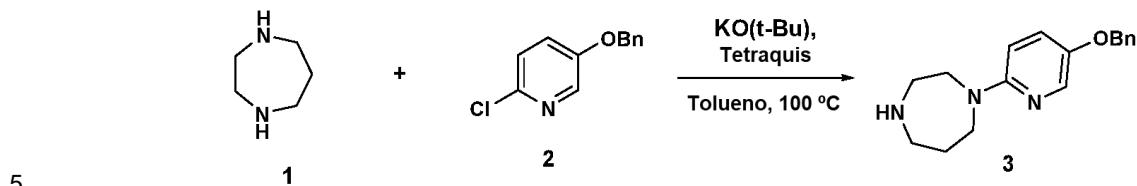
26 A una solución agitada de clorhidrato de 5-metoxi-2-(piperazin-1-il)pirimidina (50 mg, 0,217 mmol) se le añadió DIPEA (0,114 ml, 0,650 mmol) y 3-bromo-1-(4-cloro-3-fluorofenil)pirrolidin-2-ona (95 mg, 0,325 mmol) en DMF seca (1,5 ml). La mezcla de reacción se calentó con MO a 120 °C durante 90 minutos. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-metoxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (60 mg, 0,093 mmol, rendimiento del 43 %) con una pureza del 63 % mediante CLEM, que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 2,2 min, M (+1) - 406.

36 **Esquema 3:**

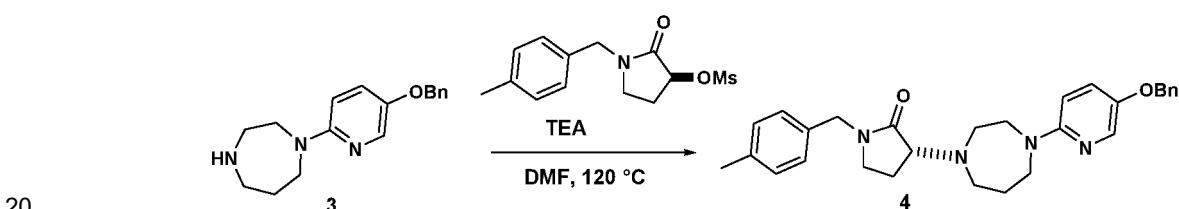


- El compuesto 2 se preparó con referencia a:  
Patente: US2003/162790 A1, 2003.

**Etapa 1: 1-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepano.**

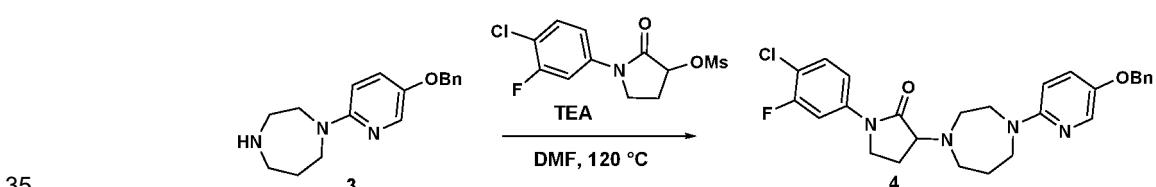
A una solución agitada de 1,4-diazepano (4,10 g, 41,0 mmol) en tolueno (10 ml) se le añadió 5-(benciloxi)-2-cloropiridina (3,00 g, 13,66 mmol) y *TERC-BUTÓXIDO DE POTASIO* (3,06 g, 27,3 mmol) a TA. La mezcla de reacción se purgó con N<sub>2</sub> durante 15 minutos, seguido de la adición de Tetraquis (1,578 g, 1,366 mmol) a TA. La mezcla de reacción se calentó a 110 °C durante 4 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró para obtener 9 g de producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante ISCO usando columna de alúmina básica de 40 g, el producto se eluyó con acetato de etilo al 75 % en pet éter para obtener 1-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepano (1,5 g, 4,29 mmol, rendimiento del 31,4 %) en forma de un material gomoso de color marrón.

15 **CLEM:** % de B: Omin-2 %: 1,0min -98 %: 1,6min-98 %, Fase móvil B: Acetonitrilo, Fase móvil A: TFA al 0,1 % en agua, Método: C:\N-MassLynx, TR - 0,66 min, M(+1)-284.

**Etapa 2a:**

A una solución agitada de 1-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepano (0,200 g, 0,169 mmol) en DMF (3 ml) se le añadió TEA (0,071 ml, 0,508 mmol) y metanosulfonato de (S)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,096 g, 0,339 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 2 h en microondas. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se concentró para obtener 0,45 g de producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante CCF preparativa; la placa se reveló con acetato de etilo para obtener (R)-3-(4-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-ilo-1-(4-metil-bencil)pirrolidin-2-ona (0,04 g, 0,085 mmol, rendimiento del 50,2 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

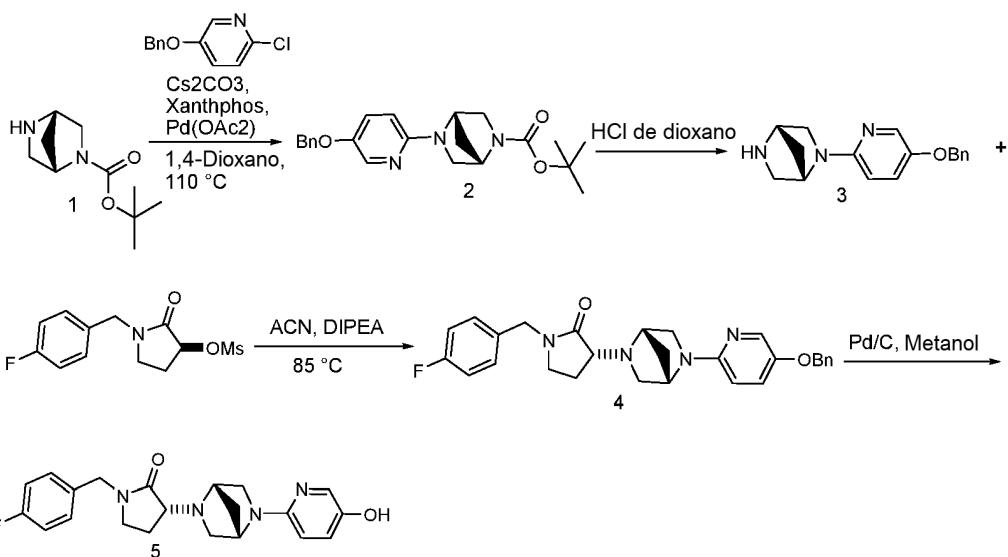
**CLEM:** Tampón: Acetato de Amonio 10 mM ajustado a pH -5 con HCOOH, Fase móvil A:Tampón:ACN (95:5), Fase móvil B:Tampón:ACN (5:95), Método: % de B: Omin-5 %: 1,1 min -95 %: 1,7 min-95 % Nombre de la columna: Acquity BEH C18 (2,1 x 50 mm) 1,7 u Método: C:\MassLynx, Flujo: 0,8 ml/min, TR-1,3 min, M(+1)-471.

**Etapa 2b:**

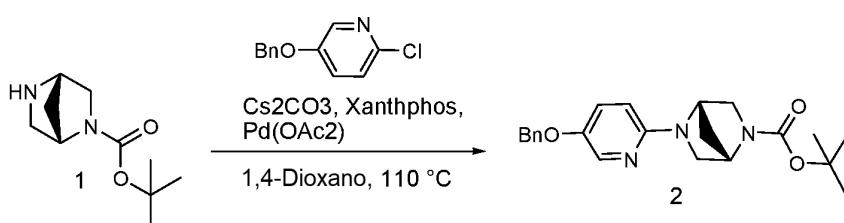
A una solución agitada de 1-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepano (0,05 g, 0,176 mmol) en DMF (3 ml) se le añadió TEA (0,074 ml, 0,529 mmol) y metanosulfonato de 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,081 g, 0,265 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 2 h en microondas. 28 % de masa del producto deseado mediante CLEM. La mezcla de reacción se concentró en alto vacío para obtener 3-(4-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-ilo-1-(4-cloro-3-fluorofenyl)pirrolidin-2-ona (0,2 g, 0,113 mmol, rendimiento del 64,1 %) en bruto en forma de una goma de color marrón y el producto en bruto tal cual se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

**CLEM:** Tampón: Acetato de Amonio 10 mM ajustado a pH -5 con HCOOH, Fase móvil A:Tampón:ACN (95:5), Fase móvil B:Tampón:ACN (5:95), Método: % de B: Omin-5 %: 1,1 min -95 %: 1,7 min-95 % Nombre de la columna: Acquity BEH C18 (2,1 x 50 mm) 1,7 u Método: C:\MassLynx, Flujo: 0,8 ml/min, ta-1,25 min, M(+1)-495.

**Esquema 4:**



**Etapa 1:** 5-(5-(benciloxi)piridin-2-yl)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de (1S,4S)-terc-butilo

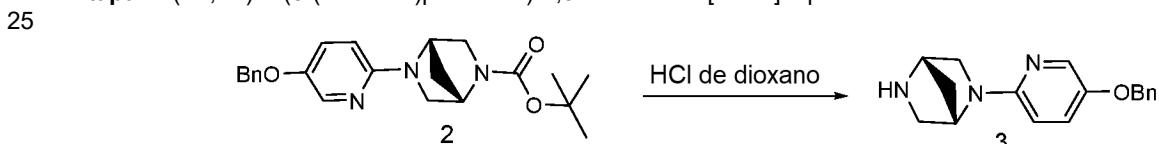


10 A una solución de 2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de (1S,4S)-terc-butilo (2,5 g, 12,61 mmol) en 1,4-Dioxano (50 ml) se le añadió 5-(benciloxi)-2-cloropiridina (3,05 g, 13,87 mmol) y CARBONATO DE CESIO (8,22 g, 25,2 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno durante 15 minutos y después se añadió XANTPHOS (1,094 g, 1,891 mmol) seguido de PdOAc<sub>2</sub> (0,283 g, 1,261 mmol) y se calentó a 110 °C durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se filtró a través de celite y se lavó con acetato de etilo (100 ml). El filtrado se concentró al vacío para obtener 5,5 g de producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (EA al 25 %:Hexano, columna de gel de sílice de 40 g) para producir 5-(5-(benciloxi)piridin-2-yl)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de (1S,4S)-terc-butilo (0,8 g, 2,097 mmol, rendimiento del 16,63 %) en forma de un sólido de color amarillo.

15 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7 µm), FaseM A: Acetato de Amonio al 10 mM en agua, FaseM B: CAN, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de A: % de B: 0,0:100,0:0,0:1,7:0,0:100,0:3,2:0,0:100,0, TR - 2,505 min, M(+1) - 382.

20

**Etapa 2:** (1S,4S)-2-(5-(benciloxi)piridin-2-yl)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano



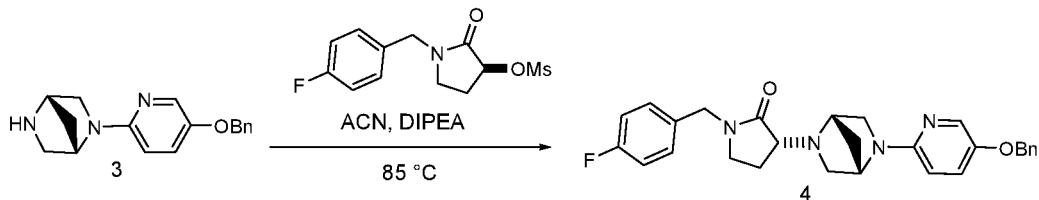
25 A una solución de 5-(5-(benciloxi)piridin-2-yl)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de (1S,4S)-terc-butilo (0,8 g, 2,097 mmol) en 1,4-Dioxano (5 ml) se le añadió HCl 4 M en Dioxano (5 ml, 20,00 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se concentró al vacío para obtener un sólido en bruto. El sólido se trituró con acetato de etilo (2x 50 ml). Al compuesto sólido se le añadió una solución de bicarbonato de sodio al 10 % (50 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (3x 50 ml), la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío para obtener (1S,4S)-2-(5-(benciloxi)piridin-2-yl)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (0,5 g, 1,066 mmol, rendimiento del 50,8 %) en forma de un sólido de color marrón.

30 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7 µm), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H<sub>2</sub>O al 2 % - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:4,0:100,0, TR - 1,726 min, M (+1) - 282.

35

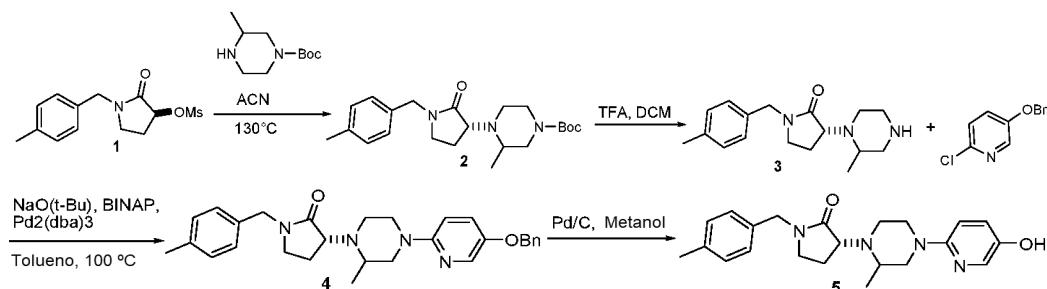
40 **Etapa 3:** (R)-3-((1S,4S)-5-(5-(benciloxi)piridin-2-yl)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)-1-(4-

fluorobencil)pirrolidin-2-ona.

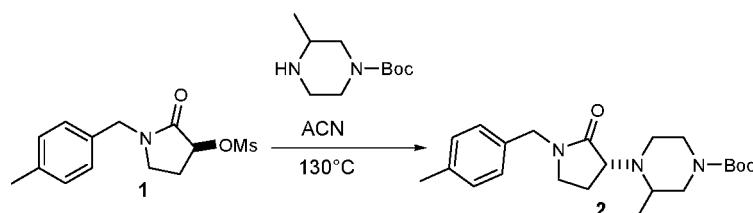


- 5 A una solución de (1S,4S)-2-(5-(benciloxy)piridin-2-il)-2,5-diazabiciclo[2.2.1]heptano (0,075 g, 0,267 mmol) en acetonitrilo (3 ml) se le añadió DIPEA (0,140 ml, 0,800 mmol) y metanosulfonato de (S)-1-(4-fluorobencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,115 g, 0,400 mmol) y la mezcla se calentó a 85 °C durante la noche. La masa de reacción se concentró a presión reducida y se dividió entre solución de bicarbonato de sodio (10 %) (50 ml) y acetato de etilo (50 ml), la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío para obtener (R)-3-((1S,4S)-5-(5-(benciloxy)piridin-2-il)-2,5-diazabiciclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-(4-fluorobencil)pirrolidin-2-ona (0,18 g, 0,194 mmol, rendimiento del 72,9 %) en forma de una goma de color marrón.  
**CLEM:** % de B: Omin-2 %: 1,0min -98 %: 1,6min-98 %, Fase móvil B: Acetonitrilo, Fase móvil A: TFA al 0,1 % en agua, Método: C:\N-MassLynx, TR - 1,21 min, M(+1) - 473.

15 **Esquema 5:**

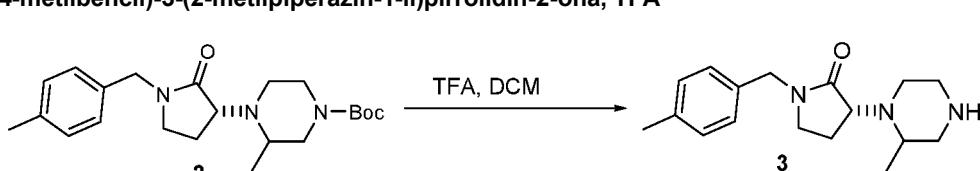


20 **Etapa 1: 3-metil-4-((R)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo.**



- 25 A una solución de 3-metilpiperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,530 g, 2,65 mmol) en acetonitrilo (30 ml) se le añadió metanosulfonato de (S)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (1,5 g, 5,29 mmol) y se elevó la temperatura a 130 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2x 50 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó sobre C18, Combiflash de fase inversa de 40 g eluida con 80 % de acetonitrilo + 20 % de mezcla de acetato de amonio 10 mM para obtener 3-metil-4-((R)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo en bruto (950 mg, 2,255 mmol, rendimiento del 85 %) en forma de un sólido de color blanco.  
**CLEM:** TR: 2,368 min ACN/H<sub>2</sub>O con HCOONH<sub>4</sub>, Ascentis Express C18 (50x2,1 mm-2,7 μm), gradiente = 1,7 min, longitud de onda = 220 nm; EM (EN): *m/z* 388. M+H.

35 **Etapa 2: 1-(4-metilbencil)-3-(2-metilpiperazin-1-il)pirrolidin-2-ona, TFA**



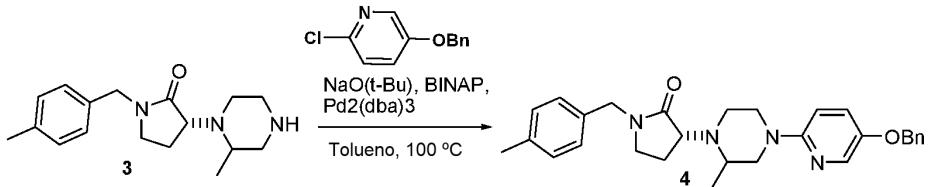
- 40 A una solución agitada de 3-metil-4-(1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1 g, 2,58 mmol) en DCM (25 ml) se le añadió TFA (1,988 ml, 25,8 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se evaporó a presión reducida

5 y se lavó con dietil éter (20 ml) y el sólido se secó a presión reducida para obtener 1-(4-metil-bencil)-3-(2-metilpiperazin-1-il)pirrolidin-2-ona, TFA (856 mg, 1,919 mmol, rendimiento del 74,4 %).

10 **CLEM:** ACN/H<sub>2</sub>O con HCOONH<sub>4</sub>, Ascentis Express C18 (50x2,1 mm-2,7 μm), gradiente - 1,7 min, longitud de onda - 220 nm, TR - 1,75 min, M (+1) - 288.

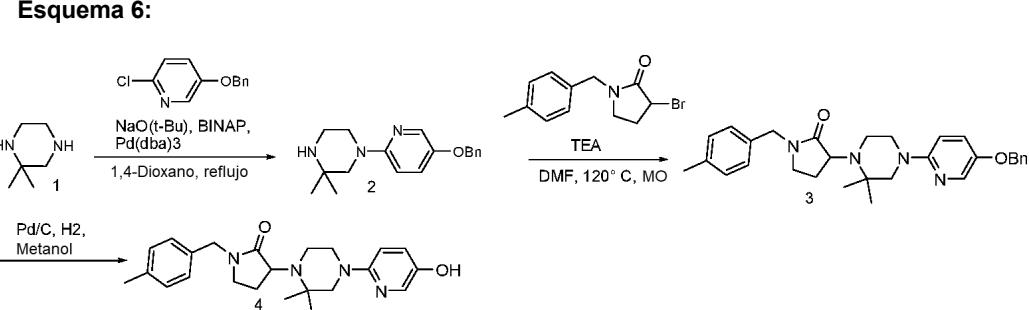
5

**Etapa 3:**



- 10 A una solución agitada de 5-(benciloxi)-2-cloropiridina (650 mg, 2,96 mmol) se le añadió 1-(4-metilbencil)-3-(2-metilpiperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (850 mg, 0,696 mmol), BINAP (43,3 mg, 0,070 mmol) y *TERC-BUTÓXIDO DE SODIO* (201 mg, 2,088 mmol). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 10 minutos y después se añadió Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (51,0 mg, 0,056 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 110 °C durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se diluyó con solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se secó sobre el Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener 1,5 g de producto en bruto. El producto en bruto se purificó sobre C18 (24 g, Columna de fase inversa, silicycle) eluido con 40 % de acetonitrilo en acetato de amonio 10 mM para obtener 3-(4-(benciloxi)piridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (650 mg, 0,994 mmol, rendimiento del 33,6 %) en forma de un líquido de color amarillo pálido con una pureza del 72 % mediante CLEM.
- 15 20 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7 μm), FaseM A: NH<sub>4</sub>COOH 10 mM EN AGUA: ACN(98:02), FaseM B: NH<sub>4</sub>COOH 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0, 3,2:0,0, TR - 2,489 min, M(+1) - 471.

25



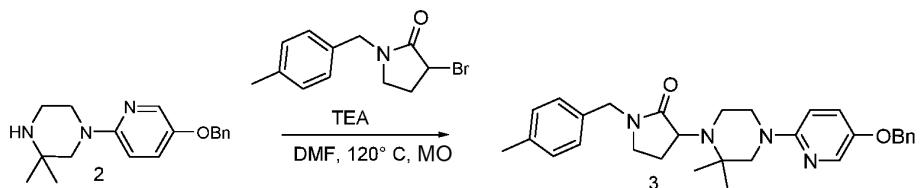
**Etapa 1: 1-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-3,3-dimetilpiperazina**

30

- 
- A una solución de 5-(benciloxi)-2-cloropiridina (1,731 g, 7,88 mmol) en 1,4-Dioxano (20 ml) se le añadió 2,2-dimetilpiperazina (1 g, 8,76 mmol), BINAP (0,545 g, 0,876 mmol), *TERC-BUTÓXIDO DE SODIO* (2,104 g, 21,89 mmol). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 15 minutos y se añadió Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0,642 g, 0,701 mmol). La mezcla de reacción se sometió a refljo durante 5 h con nitrógeno. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se diluyó con agua 50 ml y el producto se extrajo con acetato de etilo (3\*50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera (100 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó a presión reducida para obtener un residuo en bruto de 3 g. El producto en bruto se purificó sobre una columna de fase inversa C18 Redisep de 120 g eluida con 40 % de acetonitrilo + 60 % de acetato de amonio 10 mM para obtener 1-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-3,3-dimetilpiperazina (1,3 g, 4,33 mmol, rendimiento del 49,4 %).
- 35 **CLEM:** ACN/H<sub>2</sub>O con HCOONH<sub>4</sub>, Ascentis Express C18 (50x2,1 mm-2,7 μm), gradiente = 1,7 min, longitud de onda = 220 nm, TR - 1,94 min, M(+1) - 298.
- 40

**Etapa 2: (R)-3-(4-(benciloxi)piridin-2-il)-2,2-dimetilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona.**

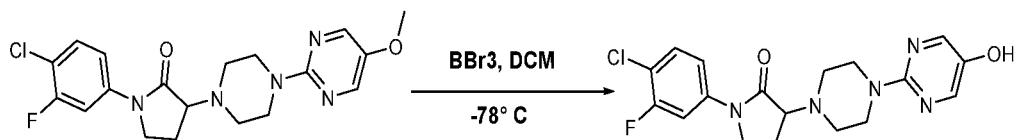
45



5 A una solución de 3-bromo-1-(4-metilbencil)piperazin-2-ona (135 mg, 0,504 mmol) en DMF (2 ml) se le añadió 1-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-3,3-dimetilpiperazina (100 mg, 0,336 mmol) y TEA (0,047 ml, 0,336 mmol) a TA. La mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 1,5 h en microondas CEM. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. A la mezcla de reacción se le añadió agua (25 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (3\*15 ml), la capa orgánica combinada se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener 0,3 g de residuo en bruto. El producto en bruto se sometió a purificación de fase inversa C18, columna de gel de sílice de 24 g eluida con 80 % de acetonitrilo +20 % de TFA 10 mM para obtener (R)-3-(4-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-2,2-dimetilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)piperazin-2-ona (25 mg, 0,046 mmol, rendimiento del 13,81 %).  
10 **CLEM:** ACN/H<sub>2</sub>O con HCOONH<sub>4</sub>, Ascentis Express C18 (50x2,1 mm-2,7  $\mu\text{m}$ ), gradiente = 1,7 min, longitud de onda = 220 nm, TR - 2,562 min, M(+1) - 485.

15 Intermediarios generales

**Ejemplo 1 (Racemato): 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)piperazin-2-ona.**



20 20 A una solución agitada de 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-metoxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)piperazin-2-ona (60 mg, 0,148 mmol) en DCM (8 ml) a -78 °C se le añadió lentamente BBr3 en DCM (5 ml, 5,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. La finalización de la reacción se controló a través de CLEM. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (25 ml). El producto se extrajo con DCM (2\*25 ml), la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 5-35 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 35 % de B y de 5 minutos de retención al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)piperazin-2-ona (29,1 mg, 0,148 mmol, rendimiento del 50,2 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

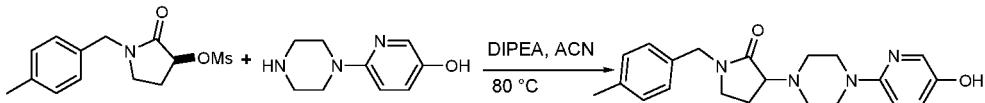
25 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

30 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

35 **CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, B: 5 % de Agua: 95 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1) mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Tiempo (min): 0---3, % de B: 0--100, TR de CLEM = 1,34 min (M+H, 392).

40 **RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 8,03 (s, 2 H), 7,87 - 7,81 (m, 1 H), 7,54 - 7,39 (m, 2 H), 3,90 - 3,70 (m, 7 H), 3,04 - 2,95 (m, 2 H), 2,76 - 2,68 (m, 2 H), 2,39 - 2,31 (m, 1 H), 2,27 - 2,16 (m, 1 H).

45 **Ejemplo 2 (P1 y P2):**



50 50 A una solución agitada de metanosulfonato de (S)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,108 g, 0,382 mmol) en ACN (5 ml) se le añadió 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (0,057 g, 0,318 mmol) y DIPEA (0,139 ml, 0,795 mmol) y la mezcla se calentó a 80 °C durante 16 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se enfrió a TA. La mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml) y la capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (3

x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (15 ml) y salmuera (15 ml) y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La mezcla se filtró, y el disolvente se retiró en el vacío para proporcionar el producto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ;

5 Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  10 mM; Gradiente: 5-30 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 30 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener **2**; 3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (30 mg, 0,0816 mmol, rendimiento del 25,74 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

10 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con  $\text{NH}_4\text{OAc}$  10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

15 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1) mm, 2,7  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

20 La selección quiral del compuesto **2** muestra dos picos, indica la racemización. La mezcla racémica **2** se sometió a CFS para la separación quiral. Las fracciones de CFS se recogieron y se concentraron para obtener **P1**; (S)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona y **P2**; (R)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona.

25 **El compuesto se registró como BMT-173283 01 -003 (con ee del 57 %). Ee de BMT-173283-01-003 (98564-126-02): 57 % se purificó mediante CFS**

30 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 23,2, Flujo total: 3, Caudal de  $\text{CO}_2$ : 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 101.

#### Información del pico:

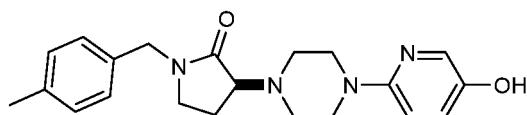
Número	Nombre del pico	TR (min)	Área	% de área
1	Pico1	3,37	431,3981	21,027
2	Pico2	4,82	1620,2377	78,973

#### 35 Método de purificación por CFS:

**Condiciones de CFS analítica:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 4,6)mm, 5u, % de  $\text{CO}_2$ : 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 3,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 244.

35 **Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 21)mm, 5u, % de  $\text{CO}_2$ : 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 75,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 244, Número de pico: Tiempo de retención: Pico 1: 3,00; Pico 2: 4,00, Solubilidad: Metanol en 5 ml, Capacidad de carga/lny: 9,00 mg/ml, N.º total de inyecciones: 15, Tiempo total para la purificación 1,0 h, Detalles del instrumento: Marca/Modelo: Thar CFS-80.

#### 40 Para **P1** (Homoquiral): (S)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona

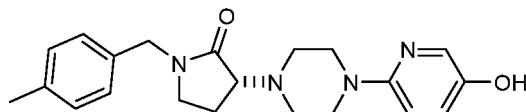


45 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu\text{m}$ ), FaseM A:  $\text{HCOOH}$  al 0,1 % en agua, FaseM B: CAN, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de A: % de B: 0,0:100,0:0,1:7,0:0,1:100,0:3,2:0,0:100,0, TR - 1,669, M(+1)-367.

50 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 23,7, Flujo total: 3, Caudal de  $\text{CO}_2$ : 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 99, TR - 2,9 min.

55 **RMN de  $^1\text{H}$ :** 400 MHz, MeOD:  $\delta$  2,03-2,09 (m, 1H), 2,22 (t,  $J$  = 7,60 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,78 (t,  $J$  = 11,20 Hz, 2H), 3,11 (t,  $J$  = 21,20 Hz, 2H), 3,21-3,27 (m, 2H), 3,42-3,43 (m, 4H), 3,71 (t,  $J$  = 17,20 Hz, 1H), 4,37 (d,  $J$  = 14,80 Hz, 1H), 4,49 (d,  $J$  = 14,40 Hz, 1H), 6,81 (d,  $J$  = 10,00 Hz, 1H), 7,13-7,19 (m, 5H), 7,73 (d,  $J$  = 2,80 Hz, 1H).

#### Para **P2** (Homoquiral): (R)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona

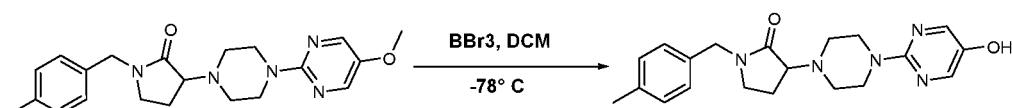


**Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 23,7, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 99, TR - 4,95 min.

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7 μm), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H<sub>2</sub>O al 2 % - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de A: 0,0:0,1:5:100,0:3,2:100,0, TR - 1,733, M(+1)-367.

**RMN1:** 400 MHz, MeOD: δ 2,01-2,08 (m, 1H), 2,15-2,20 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,67-2,73 (m, 2H), 2,98-3,03 (m, 2H), 3,19-3,26 (m, 2H), 3,38 (t, J = 10,40 Hz, 4H), 3,62 (t, J = 17,60 Hz, 1H), 4,36 (d, J = 14,40 Hz, 1H), 4,49 (d, J = 14,40 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,80 Hz, 1H), 7,13-7,73 (m, 5H), 7,73 (d, J = 2,80 Hz, 1H).

**15 Ejemplo 3 (Racemato): 3-(4-(5-hidroxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona.**



20 A una solución agitada de 3-(4-(5-metoxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (60 mg, 0,157 mmol) en DCM (8 ml) a -78 °C se le añadió lentamente BBr<sub>3</sub> en DCM (5 ml, 5,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó con una solución de NaHCO<sub>3</sub> saturada extraída con DCM (2 x25 ml), la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó a presión reducida para obtener 75 mg de compuesto en bruto. El compuesto en bruto se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5 μm; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19X10 mm, 5 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 5-35 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 35 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrifugo Genevac para obtener 3-(4-(5-hidroxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (15,1 mg, 0,041 mmol, rendimiento del 26,1 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

**Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

**Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

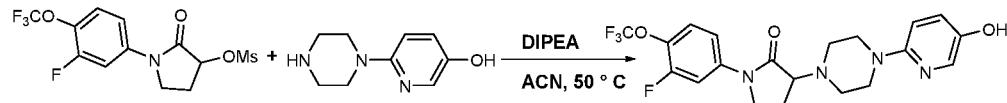
**RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>) δ = 8,03 (s, 2 H), 7,17 (d, J = 2,0 Hz, 4 H), 4,53 - 4,46 (m, 1 H), 4,41 - 4,33 (m, 1 H), 3,74 - 3,59 (m, 5 H), 3,30 - 3,19 (m, 3 H), 2,97 - 2,88 (m, 4 H), 2,68 - 2,59 (m, 2 H), 2,34 (s, 3 H), 2,24 - 2,14 (m, 1 H), 2,10 - 1,98 (m, 1 H).

**Información del método de CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, B: 5 % de Agua: 95 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm, Tiempo (min): 0--3, % de B: 0--100, TR de CLEM = 1,24 min, M (+1) - 368.

**Selección quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux 4 (250 X 4,6)mm, 5u, Temperatura de la columna: 27,1, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 99, TR quiral: 5,59 min.

**Ejemplo 4:**

50 1-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-3-(4-(5-hidroxipirimidin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona



55 A una solución de clorhidrato de 6-(piperazin-1-yl)pirrolidin-3-ol (20 mg, 0,093 mmol) en acetonitrilo (2 ml) y DIPEA (0,049 ml, 0,278 mmol) calentada a 80 °C se le añadió metanosulfonato de 1-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-2-oxopirrolidina-3-ilo (43,1 mg, 0,121 mmol) en acetonitrilo (1 ml) durante 1 min. Después, la mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h. Se dejó enfriar la mezcla a TA y después se concentró. El residuo se purificó mediante SCP. El material

en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 10-45 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 45 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B;

5 Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (1,5 mg, 3,34  $\mu$ mol, rendimiento del 3,60 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

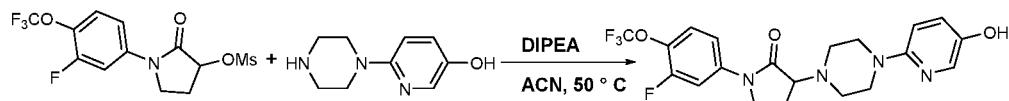
10 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

15 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

20 **RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 8,87 - 9,06 (m, 1 H) 7,90 - 7,99 (m, 1 H) 7,71 - 7,78 (m, 1 H) 7,53 - 7,64 (m, 2 H) 6,98 - 7,13 (m, 2 H) 6,67 - 6,76 (m, 1 H) 3,64 - 3,87 (m, 3 H) 2,89 - 2,99 (m, 2 H) 2,57 - 2,71 (m, 2 H) 2,18 - 2,37 (m, 1 H) 2,00 - 2,13 (m, 1 H).

25 **CLEM:** Información del método: A: 95 % de Agua: 5 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, B: 5 % de Agua: 95 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1) mm, 2,7  $\mu$ m, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0---100, TR - 1,49 min, M(+1) - 441.

#### Ejemplo 5:



25 A una solución de clorhidrato de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (20 mg, 0,093 mmol) en acetonitrilo (2 ml) y DIPEA (0,049 ml, 0,278 mmol) calentada a 80 °C se le añadió metanosulfonato de 1-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-2-oxopirrolidina-3-ilo (25 mg, 0,070 mmol) en ACN (1 ml) durante 1 minuto. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 12 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se enfrió a TA y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto que se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 10-45 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 45 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B;

30 B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-3-(4-(5-hidroxypyridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona (4,7 mg, 10,25  $\mu$ mol, rendimiento del 11,05 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

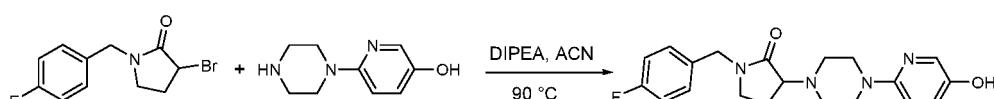
35 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

40 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

45 **CLEM:** Información del método: A: 95 % de Agua: 5 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 % de acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1) mm, 2,7  $\mu$ m, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0---100, TR - 1,484 min, M(+1) - 441.

50 **RMN de <sup>1</sup>H:** 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>:  $\delta$  8,98 (s a, 1H), 7,93-7,69 (m, 2H), 7,73-7,74 (m, 1H), 7,59 (s, 2H), 6,95-7,20 (m, 1H), 6,71-6,95 (m, 1H), 3,71-3,81 (m, 3H), 3,32-3,37 (m, 4H), 2,89-2,94 (m, 2H), 2,60-2,73 (m, 2H), 2,24-2,45 (m, 2H).

#### Ejemplo 6 (P1 y P2):



55 Una solución agitada de 3-bromo-1-(4-fluorobencil)piprolidin-2-ona (0,042 g, 0,153 mmol), 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol, HC1 (0,03 g, 0,139 mmol) y DIPEA (0,024 ml, 0,139 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se calentó a 90 °C durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se enfrió a TA. La mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml) y la capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (15 ml) y salmuera (15 ml) y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La mezcla se filtró, y el disolvente se retiró en el vacío para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se sometió a SCP. El

material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 10-30 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 30 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B;

5 Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (+/-)-1-(4-fluorobencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (45,1 mg, 0,122 mmol, rendimiento del 88 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

10 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

15 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

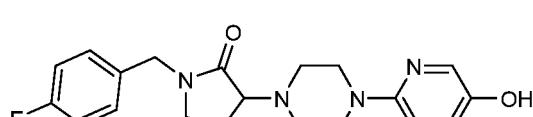
15 El compuesto Racémico se separó mediante CFS Quiral.

#### Método de purificación por CFS:

20 **Condiciones de CFS analítica:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 4,6)mm, 5u, % de CO<sub>2</sub>: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 3,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 243.

25 **Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 21)mm, 5u, % de CO<sub>2</sub>: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 70,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 243, Número de pico: Tiempo de retención: Pico 1: 3:00: Pico 2: 4,00, Solubilidad: Metanol+THF (1:1) en 5 ml, Capacidad de carga/lny: 8,00 mg/ml, N.º total de inyecciones: 15, Tiempo total para la purificación 1,0 h, Detalles del instrumento: Marca/Modelo: La purificación quiral CFS-80 Thar dio como resultado 1-(4-fluorobencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (17 mg, 0,046 mmol, rendimiento del 33,0 %) y 1-(4-fluorobencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (14 mg, 0,038 mmol, rendimiento del 27,2 %).

30 **Para P1 (Homoquiral): 1-(4-fluorobencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona**

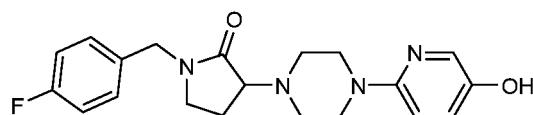


35 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH<sub>4</sub>C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH<sub>4</sub>C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR-2,182 min, M(+1) - 371.

40 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 23,4, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 100, TR- 2,57 min.

45 **RMN de 1H:** 400 MHz, MeOD:  $\delta$  2,05 (t, J = 15,20 Hz, 1H), 2,15-2,20 (m, 1H), 2,67-2,71 (m, 2H), 2,97-3,00 (m, 2H), 3,23-3,28 (m, 2H), 3,42-3,43 (m, 2H), 3,60 (t, J = 17,60 Hz, 1H), 4,40 (d, J = 14,40 Hz, 1H), 4,51 (d, J = 14,80 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 8,80 Hz, 1H), 7,06-7,10 (m, 2H), 7,12-7,15 (m, 1H), 7,28-7,32 (m, 2H), 7,73-7,74 (m, 1H).

50 **Para P2 (Homoquiral): 1-(4-fluorobencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona**

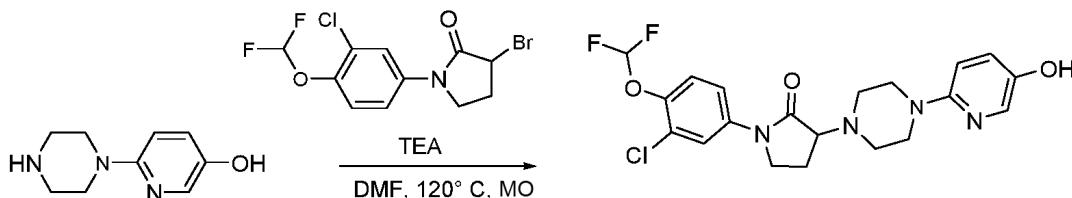


50 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH<sub>4</sub>C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH<sub>4</sub>C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR-2,188 min, M(+1) - 371.

55 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 23,4, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 100, TR- 4,11 min.

**RMN de 1H:** 400 MHz, MeOD:  $\delta$  2,02-2,11 (m, 1H), 2,16-2,20 (m, 1H), 2,65-2,71 (m, 2H), 2,96-3,02 (m, 2H), 3,21-3,28 (m, 2H), 3,30-3,38 (m, 4H), 3,60 (t,  $J$  = 17,60 Hz, 1H), 4,43 (d,  $J$  = -8,40 Hz, 1H), 4,51 (d,  $J$  = 14,80 Hz, 1H), 6,76 (d,  $J$  = 8,80 Hz, 1H), 7,06-7,10 (m, 2H), 7,12-7,15 (m, 1H), 7,28-7,32 (m, 2H), 7,74 (d,  $J$  = 2,80 Hz, 1H).

5 **Ejemplo 7 (P1 y P2):**



10 A una solución de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (250 mg, 1,395 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se le añadió trietilamina (706 mg, 6,97 mmol) y 3-bromo-1-(3-cloro-4-(difluorometoxi)fenil)pirrolidin-2-ona (475 mg, 1,395 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 1,5 h en Microondas CEM. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se diluyó con una solución de cloruro de amonio saturado (50 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó a presión reducida para obtener un residuo en bruto de 0,9 g. Pureza en bruto: 51 %. El producto en bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa para obtener (+/-)-1-(3-cloro-4-(difluorometoxi)fenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona (100 mg, 0,227 mmol, rendimiento del 16,33 %).

15 **Información del método de HPLC:** Columna: SUNFIRE C18 250X30 10u, Fase móvil A: NH4OAC 10 mM EN AGUA, Fase móvil B: CAN Solubilidad: CAN+THF, Flujo: 30 ml/min Capacidad de carga: 50 mg, T% de B: 0/30, 10/60 N.º de inyecciones: 16, Tiempo de purificación total: 8 min.

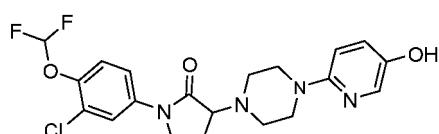
20 **CLEM (TFA):** TR 0,67 min; {Fase móvil A: TFA al 0,1 % en agua, Fase móvil B: Acetonitrilo} Acquity BEH C18 (2,1 x 50 mm) 1,7 u, gradiente = 2,25 min, longitud de onda = 220 nm; EM (EN):  $m/z$  439 M+H.

La mezcla racémica se sometió a una purificación por CFS para proporcionar Isómero -P1, isómero P2.

25 **Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: celulosa Lux-2 (250 X 21,5)mm, 5u, % de CO2: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 70,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 247, Número de pico: Tiempo de retención: Pico 1: 4,30: Pico 2: 5,90, Solubilidad: Metanol en 30,0 ml.

**Para P1 (Homoquiral): 1-(3-cloro-4-(difluorometoxi)fenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona**

30



**HPLC:** 95/5 a 5/95  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{TFA}$  al 0,05 %, flujo = 1 ml/min, gradiente = 15 min, Sunfire C<sub>18</sub> 4,6x150 mm: TR = 5,59 min; Pureza a 220 nm: 94,033 %; a 254 nm: 94,16 %. Xbridge Phenyl 3,5um, 4,6x150 mm: TR = 6,55 min; Pureza a 220 nm: 89,82 %; a 254 nm: 92,52 %.

35 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu\text{m}$ ), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,1:7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 2,072 min, M(+1) - 439.

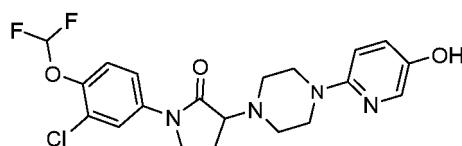
40 **CFS:** CO2 3,0\_Colvent\_100.met; Flujo: - flujo total 3, Caudal de CO2 2,1, Cosolvente (DEA al 0,3 % en metanol) 0,9; Columna: - Chiralpak AD H (250 x 4,6) mm 5  $\mu$ ; TA 3,17 min, Pureza a 217 nm:100 %.

**RMN de 1H:** 400 MHz, MeOD:  $\delta$  2,18-2,24 (m, 1H), 2,31-2,35 (m, 1H), 2,73-2,78 (m, 2H), 3,02-3,07 (m, 2H), 3,31-3,41 (m, 4H), 3,72-3,85 (m, 3H), 6,65-7,02 (m, 2H), 7,13-7,16 (m, 1H), 7,32 (d,  $J$  = 9,20 Hz, 1H), 7,57-7,60 (m, 1H), 7,74 (d,  $J$  = 3,20 Hz, 1H), 7,89 (d,  $J$  = 75,60 Hz, 1H).

45

**Para P2 (Homoquiral): (1-(3-cloro-4-(difluorometoxi)fenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona.**

50



**HPLC:** 95/5 a 5/95  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{TFA}$  al 0,05 %, flujo = 1 ml/min, gradiente = 15 min, Sunfire C<sub>18</sub> 4,6x150 mm: TR = 5,6

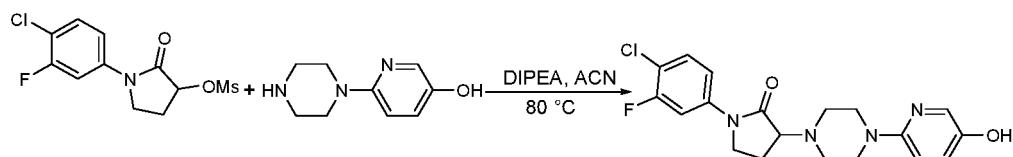
min; Pureza a 220 nm: 93,02 %; a 254 nm: 93,29 %. Xbridge Phenyl 3,5um, 4,6x150 mm: TR = 6,536 min; Pureza a 220 nm: 91,18 %; a 254 nm: 93,24 %.

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR: 2,068 min, M(+1) - 439.

**CFS:** CO2 3,0\_Colvente\_100.met; Flujo: - flujo total 3, Caudal de CO2 2,1, Cosolvente (DEA al 0,3 % en metanol) 0,9; Columna: - Chiralpak AD H (250 x 4,6) mm 5  $\mu$ ; TR 4 min; Pureza a 217 nm: 98,86 %.

**RMN de <sup>1</sup>H:** 400 MHz, MeOD:  $\delta$  2,16-2,26 (m, 1H), 2,32-2,38 (m, 1H), 2,73-2,78 (m, 2H), 3,03-3,07 (m, 2H), 3,38-3,41 (m, 4H), 3,72-3,84 (m, 3H), 6,65-7,02 (m, 2H), 7,13-7,16 (m, 1H), 7,32 (d, J = 9,20 Hz, 1H), 7,57-7,60 (m, 1H), 7,74 (d, J = 3,20 Hz, 1H), 7,89 (d, J = 75,60 Hz, 1H).

#### Ejemplo 8 (P1 y P2):



**Procedimiento:** Se añadió DIPEA (0,039 ml, 0,223 mmol) a una solución agitada de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (0,04 g, 0,223 mmol) en acetonitrilo (5 ml) a temperatura ambiente y se calentó a 50 °C. Después de 5 min se disolvió metanosulfonato de 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,124 g, 0,402 mmol) en acetonitrilo (5 ml). La mezcla de reacción se calentó a 85 °C durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad y se sometió a SCP para su purificación. El análisis quiral de **8** muestra dos picos principales, indica la racemización. La mezcla racémica **8**; 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (20 mg, 0,051 mmol, rendimiento del 22,8 %) se separó mediante CFS y se obtuvo **P1**; 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona y **P2**; 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona.

**Selección quiral para **8**:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26, Flujo total: 4, Caudal de CO2: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 129.

30

#### Información del pico

Número	Nombre del pico	TR (min)	Área	% de área
1	Pico1	1,52	224,6273	3,2263
2	Pico2	2,16	28,7287	0,4126
3	Pico3	3,02	3801,0048	54,5936
4	Pico4	6,49	2908,0087	41,7675

35

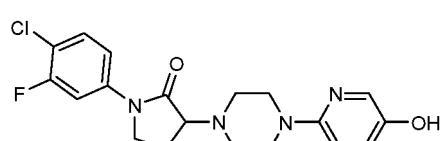
#### Método de purificación por CFS

**Condiciones de CFS analítica:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 4,6)mm, 5u, % de CO2: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 4,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 247.

40 **Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 21)mm, 5u, % de CO2: 60 %, % de Cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 70,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 247.

45

#### Para **P1** (Homoquiral):



**RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7,85 (dd, J = 2,5, 12,0 Hz, 1 H), 7,76 (d, J = 2,5 Hz, 1 H), 7,53 - 7,40 (m, 2 H), 7,20 - 7,10 (m, 1 H), 6,79 (d, J = 9,0 Hz, 1 H), 3,94 - 3,71 (m, 3 H), 3,53 - 3,39 (m, 4 H), 3,20 - 3,00 (m, 3 H), 2,78 (s, 2 H), 2,27 - 2,16 (m, 2 H).

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA: ACN (98:02),

FaseM B: NH4COOH 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2,0,0, TR - 2,18 min, M (+1) -391.

**Pureza quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: chiralpak-ODH (4,6\*250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 22,6, Caudal de CO2: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, Cosolvente: 40, Flujo total: 4, Contrapresión: 97, TR - 3,15 min.

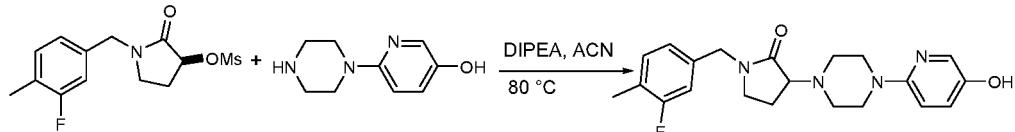
**Para P2 (Homoquiral):**

10 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: NH4COOH 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4COOH 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 2,21 min, M(+1) -391.

15 **RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7,85 (dd,  $J$  = 2,5, 12,0 Hz, 1 H), 7,76 (d,  $J$  = 2,5 Hz, 1 H), 7,53 - 7,40 (m, 2 H), 7,20 - 7,10 (m, 1 H), 6,79 (d,  $J$  = 9,0 Hz, 1 H), 3,94 - 3,71 (m, 3 H), 3,53 - 3,39 (m, 4 H), 3,20 - 3,00 (m, 3 H), 2,78 (s, 2 H), 2,27 - 2,16 (m, 2 H).

20 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: chiralpak-ODH (4,6\*250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 22,1, Caudal de CO2: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, Cosolvente: 40, Flujo total: 4, Contrapresión: 101, TR - 6,6 min.

**Ejemplo 9 (P1 y P2):**



25 A una solución de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (40 mg, 0,185 mmol) en acetonitrilo (2 ml) y DIPEA (0,097 ml, 0,556 mmol) calentada a 80 °C se le añadió metanosulfonato de (S)-1-(3-fluoro-4-metilbencil)-2-oxopirrolidina-3-ilo (84 mg, 0,278 mmol) en acetonitrilo (1 ml) durante 1 min. Despues, la mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h. Se dejó enfriar la mezcla de reacción a TA y despues se concentró. El residuo se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 5-35 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 35 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (+/-)-1 -(3-fluoro-4-metilbencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (20 mg, 0,052 mmol, rendimiento del 27,8 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

40 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

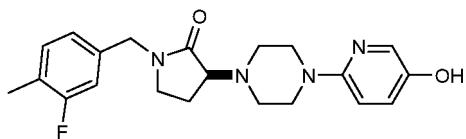
45 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

**Método de purificación por CFS:**

50 **Condiciones de CFS analítica:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 4,6)mm, 5u, % de CO2: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 3,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 245.

55 **Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 21)mm, 5u, % de CO2: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 60,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 245, Número de pico: Tiempo de retención, Pico 1: 3,00: Pico 2: 4,00, Solubilidad: Metanol en 10,0 ml, Capacidad de carga/Iny: 5,00 mg/ml, N.º total de inyecciones: 10, Tiempo total para la purificación 1,0 h, Detalles del instrumento: Marca/Modelo: Thar CFS-80.

**Para P1 (Homoquiral):**

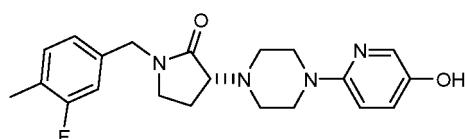


5 **CLEM:** Columna-Kinetex XB-C18 (75X3 mm-2,6  $\mu$ m), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Tiempo: % de B: Flujo: 0:20:1:4:100:1:4,6:100:1,5:4,7 20 1,5, TR - 1,653 min, M(+1) - 385.

10 **RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9,06 - 8,88 (m, 1 H), 7,79 - 7,68 (m, 1 H), 7,33 - 7,19 (m, 1 H), 7,10 - 7,03 (m, 1 H), 7,00 - 6,90 (m, 2 H), 6,76 - 6,65 (m, 1 H), 4,43 - 4,24 (m, 2 H), 3,52 - 3,40 (m, 1 H), 3,29 - 3,23 (m, 4 H), 3,20 - 3,01 (m, 2 H), 2,95 - 2,84 (m, 2 H), 2,22 (d,  $J$  = 1,5 Hz, 3 H), 2,15 - 2,02 (m, 1 H), 1,99 - 1,81 (m, 1 H).

15 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (250 X 4,6)mm, 5u, Temperatura de la columna: 27,1, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 99, TR - 4,94 min.

15 **Para P2 (Homoquiral):**

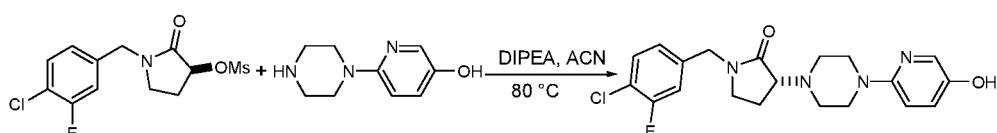


20 **CLEM:** Columna-Kinetex XB-C18 (75X3 mm-2,6  $\mu$ m), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Tiempo: % de B: Flujo: 0:20:1:4:100:1:4,6:100:1,5:4,7 20 1,5, TR - 1,656 min, M(+1) - 385.

25 **RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9,02 - 8,90 (m, 1 H), 7,80 - 7,67 (m, 1 H), 7,34 - 7,23 (m, 1 H), 7,11 - 7,03 (m, 1 H), 7,00 - 6,90 (m, 1 H), 6,76 - 6,63 (m, 1 H), 4,44 - 4,24 (m, 2 H), 3,55 - 3,44 (m, 1 H), 3,30 - 3,22 (m, 4 H), 3,20 - 3,10 (m, 2 H), 2,96 - 2,87 (m, 2 H), 2,60 - 2,53 (m, 2 H), 2,22 (d,  $J$  = 1,0 Hz, 3 H), 2,16 - 2,03 (m, 1 H), 2,00 - 1,83 (m, 1 H).

30 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (4,6X250) mm, 5u, Temperatura de la columna: 23,5, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 100, TR - 5,42 min.

30 **Ejemplo 10 (Homoquiral):**



35 A una solución de 6-(piperazin-1-yl)piridin-3-ol (0,111 g, 0,622 mmol) en 1,0 ml de CH<sub>3</sub>CN y DIPEA (0,271 ml, 1,554 mmol) a 80 °C se le añadió una solución de metanosulfonato de (S)-1-(4-cloro-3-fluorobencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,2 g, 0,622 mmol) en 0,5 ml de CH<sub>3</sub>CN durante 1,5 h. Después, la mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se enfrió a TA y se concentró para obtener 0,3 g de producto en bruto. El residuo en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 5-35 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 35 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (R)-1-(4-chloro-3-fluorobencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona (45 mg, 0,111 mmol, rendimiento del 16,63 %). Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

Condiciones de la Inyección 1: Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

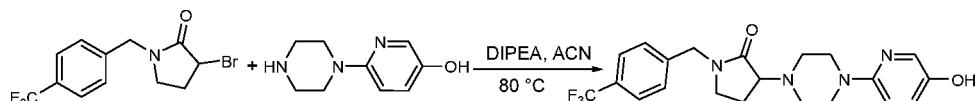
50 Condiciones de la Inyección 2: Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

**Selección quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 24,3, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,95, Caudal de cosolvente: 1,05, % de cosolvente: 35, Contrapresión: 101, TR- 6,12 min.

5 **RMN de <sup>1</sup>H:** 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>: δ 7,73 (s, 1H), 7,56 (t, J = -8,00 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 12,00 Hz, 1H), 7,06 (t, J = 36,00 Hz, 2H), 6,69-6,71 (m, 4H), 4,38 (d, J = 4,00 Hz, 2H), 3,47 (t, J = 20,00 Hz, 1H), 3,31-3,28 (m, 5H), 3,27-3,19 (m, 2H), 2,90 (t, J = 24,00 Hz, 2H), 2,53 (t, J = 24,00 Hz, 2H), 2,29-2,01 (m, 1H), 1,95-1,89 (m, 1H).

10 **CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 % de acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0--100, TR-2,27 min, M(+1) - 405.

10 **Ejemplo 11 (P1 y P2):**



15 A una solución agitada de clorhidrato de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (70 mg, 0,325 mmol) en DMF seca (1,5 ml) se le añadió DIPEA (0,170 ml, 0,974 mmol) y 3-bromo-1-(4-(trifluorometil)bencil)pirrolidin-2-ona (209 mg, 0,649 mmol). La mezcla de reacción se calentó con MO a 120 °C durante 90 min. La finalización de la reacción se controló a través de CLEM. La mezcla de reacción tal cual se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5 μm; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 5-35 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 35 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (60 mg, 0,142 mmol, rendimiento del 4,39 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

20 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

25 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

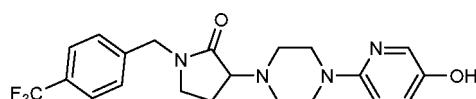
**Método de purificación por CFS:**

35 **Condiciones de CFS analítica:** Columna/dimensiones: chiralcel OD-H (250 X 4,6)mm, 5u, % de CO<sub>2</sub>: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 3,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 24 °C, UV: 210.

40 **Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: chiralcel OD-H (250 X 21,5)mm, 5u, % de CO<sub>2</sub>: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 60,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 210, Número de pico: Tiempo de retención: Pico 1: 2,50: Pico 2: 4,20, Solubilidad: Metanol en 6,0 ml, Capacidad de carga/Iny: 2,5 mg/ml, N.º total de inyecciones: 12, Tiempo total de purificación 1,0 hora, Detalles del instrumento: Marca/Modelo: Thar CFS-80.

45 **Para P1 (Homoquiral):**

**3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-(trifluorometil)bencil)pirrolidin-2-ona**



50 **CLEM:** Información del método: Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7 μm), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub>C00H 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H<sub>2</sub>O al 2 % - NH<sub>4</sub>C00H 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:4,0:100,0, TR - 1,798 min, M(+1) - 421.

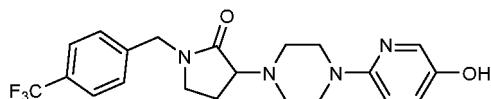
55 **RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 9,10 - 8,88 (m, 1 H), 7,74 (s, 3 H), 7,50 - 7,41 (m, 2 H), 7,10 - 7,00 (m, 1 H), 6,76 - 6,65 (m, 1 H), 4,58 - 4,36 (m, 2 H), 3,64 - 3,44 (m, 2 H), 3,25 - 3,08 (m, 4 H), 2,99 - 2,87 (m, 3 H), 2,55 (s. a., 4 H), 2,20 - 2,05 (m, 1 H), 2,01 - 1,80 (m, 1 H).

**Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 25,9, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, %

de cosolvente: 40, Contrapresión: 44, TR - 3,05 min.

**Para P2 (Homoquiral):**

5 **3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-(trifluorometil)bencil)pirrolidin-2-ona**

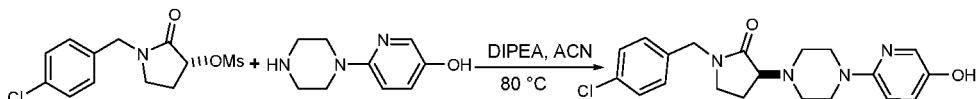


10 **CLEM:** Información del método: Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H2O - NH4COOH 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H2O al 2 % - NH4COOH 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:4,0:100,0, TR - 1,793 min, M(+1) - 421.

15 **RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9,04 - 8,92 (m, 1 H), 7,74 (s. a., 3 H), 7,51 - 7,42 (m, 2 H), 7,10 - 7,02 (m, 1 H), 6,76 - 6,66 (m, 1 H), 4,57 - 4,38 (m, 2 H), 3,54 - 3,44 (m, 1 H), 3,26 - 3,13 (m, 3 H), 2,97 - 2,86 (m, 2 H), 2,63 - 2,54 (m, 5 H), 2,18 - 2,07 (m, 1 H), 2,01 - 1,92 (m, 1 H).

15 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 25,8, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,8, Caudal de cosolvente: 1,2, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 52, TR - 3,94 min.

20 **Ejemplo 12 (Homoquiral):**



25 A una solución de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (20 mg, 0,112 mmol) en acetonitrilo (2 ml) y DIPEA (0,058 ml, 0,335 mmol) calentada a 80 °C se le añadió metanosulfonato de ((S)-1-(4-clorobencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (50,8 mg, 0,167 mmol) en acetonitrilo (1 ml) durante 1 min. Después, la mezcla se agitó a 80 °C durante 16 h. La mezcla se enfrió a TA. Después se concentró para obtener el compuesto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95

30 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Gradiente: 5-25 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 25 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (R)-1-(4-clorobencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (26 mg, 0,064 mmol, rendimiento del 57,2 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

35 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

40 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1) $\mu$ m, 2,7  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

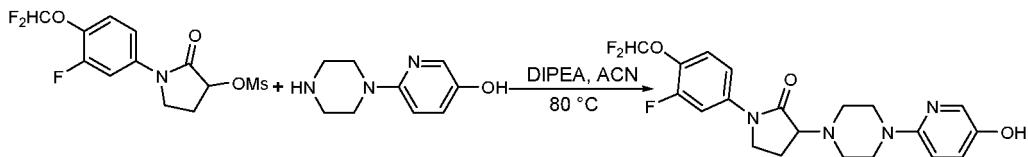
45 **RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, METHANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7,70 - 7,69 (m, 1 H), 7,47 - 7,44 (m, 1 H), 7,41 - 7,38 (m, 2 H), 7,33 - 7,29 (m, 2 H), 7,12 - 7,09 (m, 1 H), 4,59 - 4,45 (m, 2 H), 4,25 - 4,19 (m, 1 H), 3,74 - 3,60 (m, 6 H), 3,44 - 3,35 (m, 3 H), 3,29 - 3,23 (m, 2 H), 2,50 - 2,42 (m, 1 H), 2,27 - 2,18 (m, 1 H).

50 **CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 % de acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu$ m, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0--100, TA -1,33 min, M(+1) - 387.

55 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralpak AS H 4 (250 X 4,6)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,7, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,95, Caudal de cosolvente: 1,05, % de cosolvente: 35, Contrapresión: 97, TR - 3,16 min.

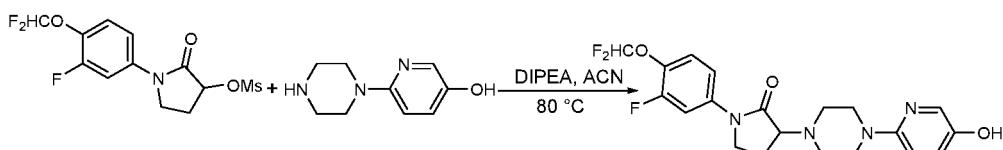
**Ejemplo 13 P1 (Homoquiral):**

**1-(4-(difluorometoxi)-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona**



- A una suspensión de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (39,6 mg, 0,221 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se le añadió DIPEA (0,116 ml, 0,663 mmol) y se calentó la masa de reacción a 50 °C durante 10 minutos. A esta temperatura se añadió 5 metanosulfonato de 1-(4-(difluorometoxi)-3-fluorofenil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (75 mg, 0,221 mmol) en acetonitrilo (1 ml) y se agitó la masa de reacción a 80 °C durante 18 h. La mezcla se enfrió a TA. Después se concentró para obtener el compuesto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5 μm; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Gradiente: 5-25 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 25 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(4-(difluorometoxi)-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona (8,5 mg, 0,020 mmol, rendimiento del 9,01%) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.
- Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)μm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.
- Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.
- CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 %, Acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0---100, TR - 1,331 min M(+1)-423.
- RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METHANOL-d<sub>4</sub>) δ = 7,85 (dd, J = 2,5, 13,1 Hz, 1 H), 7,77 (d, J = 2,5 Hz, 1 H), 7,45 - 7,40 (m, 1 H), 7,37 - 7,30 (m, 1 H), 7,17 (dd, J = 3,0, 9,0 Hz, 1 H), 7,03 - 6,64 (m, 2 H), 3,91 - 3,74 (m, 3 H), 3,42 (t, J = 5,0 Hz, 4 H), 3,07 (td, J = 5,1, 10,8 Hz, 2 H), 2,82 - 2,74 (m, 2 H), 2,42 - 2,32 (m, 1 H), 2,29 - 2,16 (m, 1 H).
- Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-2 (4,6\*250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 21,2, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, Cosolvente: 40, Flujo total: 4, Contrapresión: 98, TR- 3,86 min.

**Ejemplo 13 P2 (Homoquiral): 1-(4-(difluorometoxi)-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona.**



- 35 A una suspensión de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (39,6 mg, 0,221 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se le añadió DIPEA (0,116 ml, 0,663 mmol) y se calentó la masa de reacción a 50 °C durante 10 minutos. A esta temperatura se añadió 40 metanosulfonato de 1-(4-(difluorometoxi)-3-fluorofenil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (75 mg, 0,221 mmol) en acetonitrilo (1 ml) y se agitó la masa de reacción a 80 °C durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla se enfrió a TA. Después se concentró para obtener el compuesto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5 μm; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Gradiente: 5-25 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 25 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(4-(difluorometoxi)-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona (21 mg, 0,049 mmol, rendimiento del 22,27%) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.
- 50 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)μm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.
- Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)μm, 2,7 μm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1%; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.
- CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 %, Acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 μm, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0-

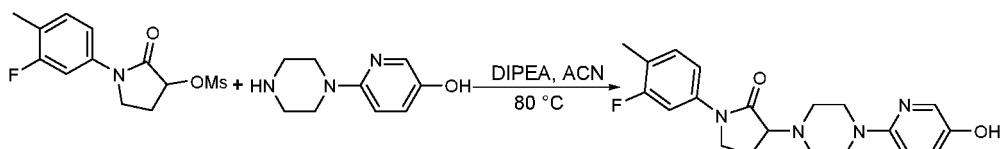
--100, TR - 1,332 min M(+1) - 423.

**RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, METHANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7,85 (dd,  $J$  = 2,5, 12,5 Hz, 1 H), 7,76 (d,  $J$  = 3,0 Hz, 1 H), 7,45 - 7,40 (m, 1 H), 7,36 - 7,31 (m, 1 H), 7,19 - 7,15 (m, 1 H), 7,02 - 6,64 (m, 2 H), 3,89 - 3,74 (m, 3 H), 3,44 - 3,40 (m, 4 H), 3,07 (td,  $J$  = 5,3, 10,9 Hz, 2 H), 2,78 (td,  $J$  = 5,1, 10,8 Hz, 2 H), 2,41 - 2,33 (m, 1 H), 2,29 - 2,18 (m, 1 H).

5 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-2 (4,6\*250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 21,2, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, Cosolvente: 40, Flujo total: 4, Contrapresión: 98, TR- 3,17 min.

10 **Ejemplo 14 (P1 y P2):**

Ejemplo 14 P1 (Homoquiral):



15 A una solución agitada de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (0,04 g, 0,223 mmol) en acetonitrilo (6 ml) se le añadió DIPEA (0,117 ml, 0,670 mmol) a TA. La mezcla de reacción se calentó a 50 °C y se añadió metanosulfonato de 1-(3-fluoro-4-metilfenil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,115 g, 0,402 mmol) en acetonitrilo (2 ml) lentamente gota a gota. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla se llevó a TA. Después se concentró para obtener el compuesto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante SCP. 20 El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Gradiente: 10-35 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 35 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(3-fluoro-4-metilfenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-yl)piperazin-1-yl)pirrolidin-2-ona (16,5 mg, 0,0445 mmol, 19,95 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

25 **Condiciones de la Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1) $\mu\text{m}$ , 2,7  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH<sub>4</sub>OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

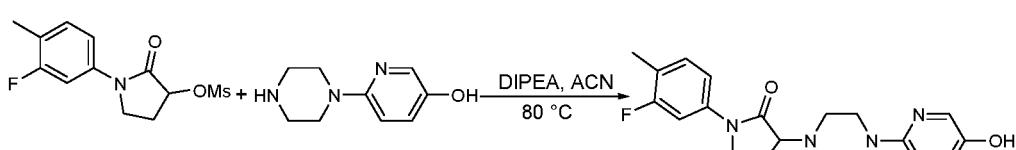
30 **Condiciones de la Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1) $\mu\text{m}$ , 2,7  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

**RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7,76 (d,  $J$  = 3,0 Hz, 1 H), 7,57 (d,  $J$  = 12,0 Hz, 1 H), 7,32 - 7,23 (m, 1 H), 35 7,16 (dd,  $J$  = 3,0, 9,0 Hz, 1 H), 6,80 (d,  $J$  = 9,0 Hz, 1 H), 4,60 (s, 1 H), 3,88 - 3,71 (m, 2 H), 3,51 (s, 1 H), 3,42 (t,  $J$  = 5,0 Hz, 1 H), 3,16 (d,  $J$  = 1,5 Hz, 1 H), 3,10 - 3,00 (m, 1 H), 2,77 (dd,  $J$  = 5,5, 10,5 Hz, 1 H), 2,32 - 2,20 (m, 1 H).

**CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, B: 5 % de Agua:95 %, Acetonitrilo; NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Tiempo (min): 0--3, % de B: 0--100, TR-1,32 min, M(+1)-371.

40 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-4 (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 18,8, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Tasa de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Flujo total: 4, Contrapresión: 102, TR - 4,09 min, ee del 97,6 %.

45 **Ejemplo 14 P2 (Homoquiral):**



50 A una solución agitada de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (0,04 g, 0,223 mmol) en acetonitrilo (6 ml) se le añadió DIPEA (0,117 ml, 0,670 mmol) a TA. La mezcla de reacción se calentó a 50 °C y se añadió metanosulfonato de 1-(3-fluoro-4-metilfenil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,115 g, 0,402 mmol) en acetonitrilo (2 ml) lentamente gota a gota. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla se dejó enfriar a TA. Después se concentró para obtener el compuesto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Gradiente: 5-25 % de B en 55

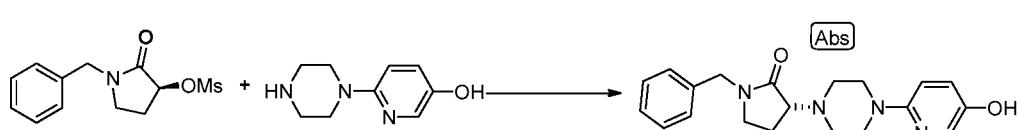
25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 25 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(3-fluoro-4-metilfenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (13 mg, 0,035 mmol, rendimiento del 15,10 %).

5 **RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7,76 (d,  $J$  = 2,5 Hz, 1 H), 7,63 - 7,50 (m, 1 H), 7,33 - 7,23 (m, 2 H), 7,16 (dd,  $J$  = 3,0, 9,0 Hz, 1 H), 6,80 (d,  $J$  = 9,0 Hz, 1 H), 4,60 (s, 1 H), 3,89 - 3,69 (m, 3 H), 3,50 (d,  $J$  = 1,5 Hz, 1 H), 3,42 (t,  $J$  = 5,3 Hz, 2 H), 3,19 - 3,14 (m, 1 H), 3,06 (dd,  $J$  = 5,3, 11,3 Hz, 2 H), 2,83 - 2,67 (m, 2 H), 2,36 (s. a., 1 H), 2,28 - 2,11 (m, 2 H).

10 **CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 %, Acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Tiempo (min): 0---3, % de B: 0---100, TR de CLEM - 1,32 min, M(+1) - 371.

15 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-4 (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 21,6, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Flujo total: 4, Contrapresión: 97, TR - 4,73 min.

15 **Ejemplo 15 (Homoquiral):**



20 A una solución agitada de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (0,015 g, 0,084 mmol) en DMF (3 ml) se le añadió TEA (0,035 ml, 0,251 mmol) y metanosulfonato de (S)-1-bencil-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,045 g, 0,167 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 2 h en microondas. Masa de producto deseado principal mediante CLEM. La mezcla de reacción tal cual se sometió a SCP. El compuesto en bruto se purificó mediante SCP para obtener (R)-1-bencil-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (2 mg, 5,39  $\mu\text{mol}$ , rendimiento del 6,44 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

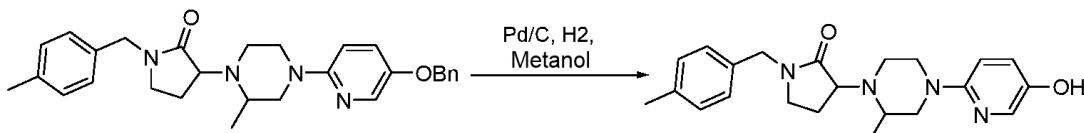
25 **CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de Acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 % de acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Tiempo (min): 0---3, % de B: 0---100, TR-1,161 min, M(+1)-353.

30 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: chiralcel-ASH (250\*4,6) 5u, Temperatura de la columna: 24,6, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Flujo total: 4, Contrapresión: 103, TR - 2,3 min.

35 **RMN de  $^1\text{H}$ :** 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>:  $\delta$  2,08 (s, 2H), 2,92 (sa, 2H), 3,18-3,22 (m, 6H), 3,37-3,42 (m, 2H), 4,34-4,46 (m, 3H), 6,75 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 7,07-7,09 (m, 1H), 7,22-7,25 (m, 2H), 7,28-7,31 (m, 1H), 7,35-7,39 (m, 2H), 7,75 (d,  $J$  = 2,80 Hz, 1H).

35 **Ejemplo 16 (P1, P2, P3 Y P4):**

**3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona**



40 A una solución de 3-(4-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (650 mg, 1,381 mmol) en metanol (20 ml) se le añadió Pd/C (147 mg, 1,381 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a presión de hidrógeno durante 18 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con metanol (100 ml), el filtrado se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó a presión reducida para obtener un residuo en bruto. El producto en bruto se purificó sobre una columna silicycle de fase inversa C18 eluida con acetonitrilo al 50 % + acetato de amonio 10 mM para proporcionar fracciones puras, que tras la evaporación proporcionaron 3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (420 mg, 0,993 mmol, rendimiento del 71,9 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

50 **CLEM:** TR: 1,93 min ACN/H<sub>2</sub>O con HCOONH<sub>4</sub>, Ascentis Express C18 (50x2,1 mm-2,7  $\mu\text{m}$ ), gradiente = 1,7 min, longitud de onda = 220 nm; EM (EN): *m/z* 381. M+H.

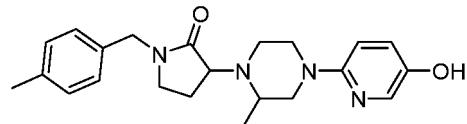
55 **CFS:** CO<sub>2</sub> 3,0\_Colvent\_100.met; Flujo: - flujo total 3, Caudal de CO<sub>2</sub> 2,1, Cosolvente (DEA al 0,3 % en metanol) 0,9; Columna: - Chiralpak AD H (250 x 4,6) mm 5  $\mu$ ; TR 3,9 min; Pureza a 217 nm: 32 %, TR 4,7 min; Pureza a 217 nm: 16 %, TR 6 min; Pureza a 217 nm: 16 %, TR 10 min; Pureza a 217 nm:33 %.

55 **Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: Chiralcel OD-H (250 X 21)mm, 5u, % de CO<sub>2</sub>: 75 %, % de cosolvente: 25 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 60,0 g/min Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 245, Número de pico: Tiempo de retención: Pico 1: 3,90: Pico 2: 4,70: Pico 3: 6,00: Pico 4: 10,00, Solubilidad: 60 ml en metanol, Capacidad de carga/lny: 5,0 mg/ml, N.º total de inyecciones: 120 Tiempo total para la

purificación 15,0 horas. Detalles del instrumento: Marca/Modelo: Thar CFS-80.

**Para P1 (Homoquiral):**

5 **3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona**



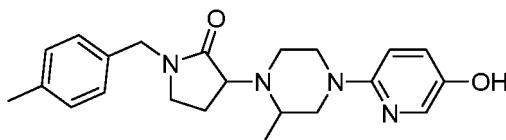
10 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H<sub>2</sub>O al 2 % - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,1:7:100,0:4,0:100,0, TA -1,774 min, M(+1)-381.

15 **RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>) d ppm 7,75 (dd, J = 3,01, 0,50 Hz, 1 H) 7,13 - 7,21 (m, 5 H) 6,77 (dd, J = 9,04, 0,44 Hz, 1 H) 4,55 (s, 1 H) 4,42 (s, 1 H) 4,13 (t, J = 9,00 Hz, 1 H) 3,77 - 3,88 (m, 2 H) 3,36 - 3,39 (m, 2 H) 3,24 - 3,30 (m, 2 H) 3,02 (d, J = 0,25 Hz, 1 H) 2,95 (td, J = 11,66, 3,17 Hz, 1 H) 2,88 (d, J = 0,69 Hz, 1 H) 2,58 - 2,73 (m, 4 H) 2,34 (s, 3 H) 2,07 - 2,19 (m, 1 H) 1,95 - 2,05 (m, 3 H) 1,18 - 1,24 (m, 3 H).

20 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,25, Caudal de cosolvente: 0,75, % de cosolvente: 25, Contrapresión: 99, TR - 5,3 min.

**Para P2 (Homoquiral):**

25 **3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona**

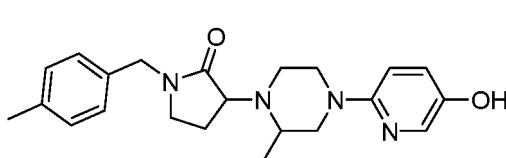


30 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H<sub>2</sub>O al 2 % - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,1:7:100,0:4,0:100,0, TA -1,751 min, M(+1)-381.

35 **RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>) d ppm 7,75 (dd, J = 2,98, 0,53 Hz, 1 H) 7,13 - 7,20 (m, 7 H) 6,77 (dd, J = 9,04, 0,50 Hz, 1 H) 4,49 (d, J = 14,56 Hz, 1 H) 4,30 - 4,35 (m, 1 H) 4,05 (dd, J = 9,60, 7,72 Hz, 1 H) 3,74 - 3,86 (m, 3 H) 3,36 - 3,45 (m, 3 H) 3,21 - 3,31 (m, 2 H) 2,99 - 3,03 (m, 2 H) 2,89 - 2,99 (m, 3 H) 2,88 (d, J = 0,63 Hz, 2 H) 2,57 - 2,70 (m, 3 H) 2,23 - 2,35 (m, 3 H) 1,94 - 2,08 (m, 3 H) 1,24 (s, 3 H). **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 25,9, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,25, Caudal de cosolvente: 0,75, % de cosolvente: 25, Contrapresión: 103, TR - 6,4 min.

**Para P3 (Homoquiral):**

40 **3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona**



45 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7  $\mu$ m), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H<sub>2</sub>O al 2 % - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,1:7:100,0:4,0:100,0, TA -1,774 min, M(+1)-381.

50 **RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>) d ppm 7,75 (dd, J = 3,01, 0,44 Hz, 1 H) 7,14 - 7,22 (m, 5 H) 6,75 - 6,80 (m, 1 H) 4,50 - 4,56 (m, 1 H) 4,38 - 4,44 (m, 1 H) 4,13 (t, J = 9,00 Hz, 1 H) 3,78 - 3,88 (m, 2 H) 3,36 - 3,38 (m, 2 H) 3,24 - 3,30 (m, 2 H) 3,02 (d, J = 0,31 Hz, 1 H) 2,95 (td, J = 11,64, 3,20 Hz, 1 H) 2,88 (d, J = 0,63 Hz, 1 H) 2,59 - 2,74 (m, 6 H) 2,34 (s, 4 H) 2,08 - 2,19 (m, 1 H) 1,94 - 2,06 (m, 4 H) 1,19 - 1,24 (m, 3 H).

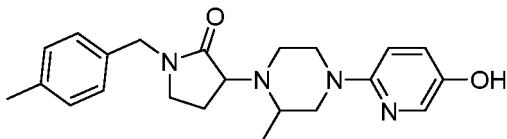
**Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH

(4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 25,9, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,25, Caudal de cosolvente: 0,75, % de cosolvente: 25, Contrapresión: 100, TR - 7,6 min.

Para P4 (Homoquiral):

5

3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona



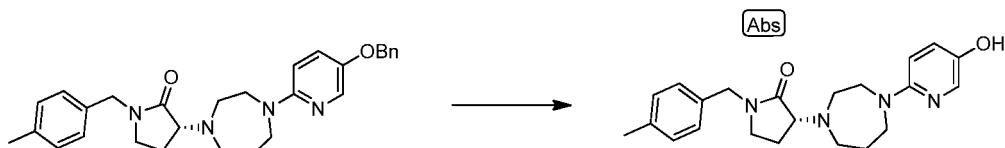
10 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7 μm), FaseM A: 2 % de ACN - 98 % de H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, FaseM B: 98 % de ACN - H<sub>2</sub>O al 2 % - NH<sub>4</sub>COOH 10 mM, Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,1:7:100,0:4,0:100,0, TA - 1,750 min, M(+1)-381.

15 **RMN de <sup>1</sup>H:** (400 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>) δ ppm 7,75 (dd, J = 3,01,0,50 Hz, 1 H) 7,13 - 7,20 (m, 5 H) 6,77 (d, J = 8,66 Hz, 1 H) 4,49 (d, J = 14,56 Hz, 1 H) 4,29 - 4,35 (m, 1 H) 4,05 (dd, J = 9,60, 7,72 Hz, 1 H) 3,75 - 3,86 (m, 2 H) 3,37 - 3,44 (m, 4 H) 3,21 - 3,31 (m, 1 H) 2,87 - 3,02 (m, 1 H) 2,57 - 2,69 (m, 1 H) 2,34 (s, 2 H) 2,22 - 2,31 (m, 1 H) 1,98 - 2,07 (m, 1 H) 1,93 - 1,96 (m, 6 H) 1,24 (s, 3 H).

20 **Pureza quiral:** Volumen de inyección: 10, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel ODH (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 24,8, Flujo total: 3, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,25, Caudal de cosolvente: 0,75, % de cosolvente: 25, Contrapresión: 100, TR - 15,1 min.

Ejemplo 17 (Homoquiral):

25



Preparación:

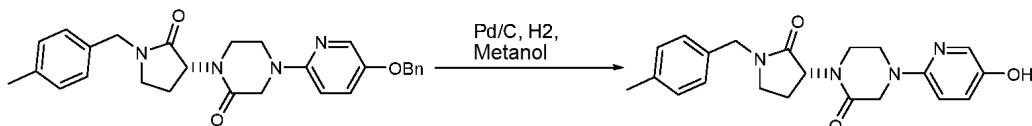
30 A una solución agitada de (R)-3-(4-(5-(bencíloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (0,1 g, 0,212 mmol) en metanol (10 ml) se le añadió Pd/C (0,023 g, 0,212 mmol) a TA. La mezcla de reacción se conectó a un fuelle de hidrógeno a través de una curva de vacío y se agitó a TA durante 18 h. Masa de producto deseada principal mediante CLEM. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró para obtener 0,04 g de producto en bruto. El producto en bruto se sometió a SCP. El compuesto en bruto se purificó mediante SCP para obtener (R)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (6,5 mg, 0,017 mmol, rendimiento del 7,88 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

35 **CLEM:** Disolvente A: 5 % de ACN, 95 % de agua, NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Disolvente B: 95 % de ACN, 5 % de agua, NH<sub>4</sub>OAC 10 mM, Caudal: 4 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x4,6)mm, 2,7 μm, Tiempo (min): 0---4, % de B: 0---100, TR-1,93 min, M(+1)-381.

40 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 3, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiraldak AD H (250 X 4,6)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,4, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 1,95, Caudal de cosolvente: 1,05, % de cosolvente: 35, Contrapresión: 99, TR - 9,73 min.

45 **RMN de <sup>1</sup>H:** 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>: δ 1,80 (s, 3H), 2,08 (d, J = 6,40 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,68-2,68 (m, 2H), 2,91 (s, 1H), 3,02-3,10 (m, 2H), 3,11-3,19 (m, 2H), 3,52-3,55 (m, 3H), 3,60 (s, 2H), 4,24-4,35 (m, 2H), 6,47 (d, J = 9,20 Hz, 1H), 7,01-7,04 (m, 1H), 7,08-7,16 (m, 4H), 7,68 (d, J = 2,80 Hz, 1H), 8,66 (s, 1H).

Ejemplo 18 (Homoquiral):



50 A una solución de (R)-4-(5-(bencíloxi)piridin-2-il)-1-(1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazin-2-ona (0,15 g, 0,182 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió Pd/C (0,12 g, 0,113 mmol) y la mezcla se agitó a TA a la presión de un globo de hidrógeno durante 12 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para obtener 0,12 g de producto en bruto. El producto en

bruto se sometió a SCP. El producto en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Metanol:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Metanol:agua con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 15-60 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10

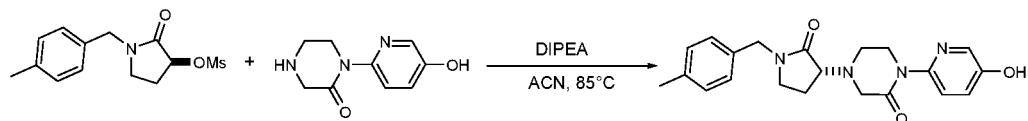
5 minutos al 60 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (R)-4-(5-hidroxipiridin-2-il)-1-(1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazin-2-ona (21 mg, 0,055 mmol, rendimiento del 30,1 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

10 **CLEM:** Disolvente A: 5 % de ACN, 95 % de Agua, NH4OAC 10 mM, Disolvente B: 95 % de ACN, 5 % de agua, NH4OAC 10 mM, Caudal: 4 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x4,6)mm, 2,7  $\mu$ m, Tiempo (min): 0---4, % de B: 0-100, TA -1,735 min, M(+1) - 381.

15 **RMN de H:** 400 MHz, DMSO-d6:  $\delta$  1,98-2,05 (m, 1H), 2,15-2,22 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 3,19-3,22 (m, 2H), 3,24-3,28 (m, 1H), 3,36-3,43 (m, 1H), 3,65 (t,  $J$  = 28,00 Hz, 2H), 3,91-4,02 (m, 2H), 4,30 (d,  $J$  = 14,80 Hz, 1H), 4,41 (d,  $J$  = 14,80 Hz, 1H), 5,06 (t,  $J$  = 19,20 Hz, 1H), 6,76 (d,  $J$  = 8,80 Hz, 1H), 7,10 (dd,  $J$  = 11,60, Hz, 1H), 7,13-7,17 (m, 4H), 7,76 (d,  $J$  = 3,20 Hz, 1H), 9,05 (s, 1H).

20 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 3, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OD-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 25, Flujo total: 3, Caudal de CO2: 1,95, Caudal de cosolvente: 1,05, % de cosolvente: 35, Contrapresión: 99, TR- 3,97 min.

#### Ejemplo 19 (Homoquiral):



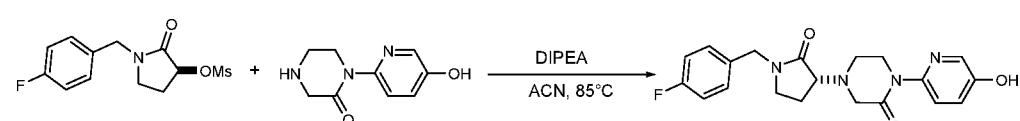
25 A una solución de 1-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-2-ona, HCl (0,03 g, 0,131 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se le añadió DIPEA (0,068 ml, 0,392 mmol), la mezcla se calentó a 60 °C durante 30 minutos y después se añadió metanosulfonato de (S)-1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,041 g, 0,144 mmol) en acetonitrilo (1 ml) y después la mezcla se calentó a 85 °C durante la noche. La masa de reacción se concentró a presión reducida y después se disolvió en 2 ml de DMF y se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150  $\mu$ m, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 5-30 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 30 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (R)-1-(5-hidroxipiridin-2-il)-4-(1-(4-metilbencil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazin-2-ona (5 mg, 0,013 mmol, rendimiento del 10,06 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

30 **CLEM:** Disolvente A: 5 % de ACN, 95 % de Agua, NH4OAC 10 mM, Disolvente B: 95 % de ACN, 5 % de agua, NH4OAC 10 mM, Caudal: 4 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x4,6)mm, 2,7  $\mu$ m, Tiempo (min): 0---4, % de B: 0---100, TR - 1,677 min, M(+1) - 381.

35 **RMN de H:** RMN de 1H: 400 MHz, MeOD:  $\delta$  2,03-2,09 (m, 1H), 2,25-2,26 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,97-3,00 (m, 1H), 3,24-3,30 (m, 2H), 3,34-3,35 (m, 1H), 3,47 (d,  $J$  = 16,80 Hz, 1H), 3,72-3,81 (m, 2H), 3,85 (t,  $J$  = 10,80 Hz, 2H), 4,40 (d,  $J$  = 14,40 Hz, 1H), 4,51 (d,  $J$  = 14,80 Hz, 1H), 7,18-7,21 (m, 4H), 7,28 (dd,  $J$  = 12,00, Hz, 1H), 7,44 (d,  $J$  = 9,20 Hz, 1H), 8,01-8,02 (m, 1H).

40 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-2 (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 29,1, Flujo total: 4, Caudal de CO2: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 98, TR - 5,76 min.

#### Ejemplo 20 (Homoquiral):



50 A una solución de 1-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-2-ona, HCl (0,03 g, 0,131 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se le añadió DIPEA (0,068 ml, 0,392 mmol), la mezcla se calentó a 60 °C durante 30 minutos y después se añadió metanosulfonato de (S)-1-(4-fluorobencil)-2-oxopirrolidin-3-ilo (0,041 g, 0,144 mmol) en acetonitrilo (1 ml) y después la mezcla se calentó a 85 °C durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se concentró a presión reducida y después se disolvió en 2 ml de DMF y se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu$ m; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu$ m; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 5-30 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 30 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para

55

obtener (R)-4-(1-(4-fluorobencil)-2-oxopirrolidin-3-il)-1-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-2-ona (1 mg, 2,55 µmol, rendimiento del 1,952 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

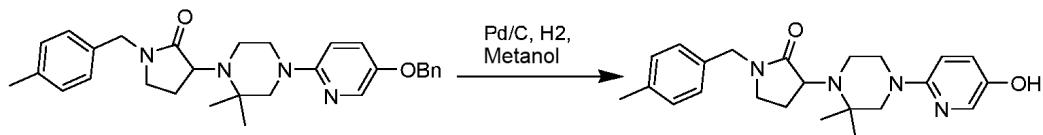
**CLEM:** Disolvente A: 5 % de ACN, 95 % de agua, NH4OAC 10 mM, Disolvente B: 95 % de ACN, 5 % de agua, NH4OAC 10 mM, Caudal: 4 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x4,6)mm, 2,7 µm, Tiempo (min): 0---4, % de B: 0-100, TR - 1,551 min, M(+1) - 385.

**RMN de H:** 400 MHz, MeOD: δ 2,04-2,10 (m, 1H), 2,25-2,30 (m, 1H), 2,97-3,02 (m, 1H), 3,26-3,30 (m, 2H), 3,34-3,37 (m, 1H), 3,47 (d, J = 16,40 Hz, 1H), 3,72-3,81 (m, 2H), 3,85 (t, J = 11,20 Hz, 2H), 4,45 (d, J = 14,80 Hz, 1H), 4,53 (d, J = 14,40 Hz, 1H), 7,09-7,13 (m, 2H), 7,28 (dd, J = 11,60, Hz, 1H), 7,31-7,35 (m, 2H), 7,44 (d, J = 9,20 Hz, 1H), 8,02 (d, J = 2,80 Hz, 1H).

**Selección quiral:** Volumen de inyección: 4, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-2 (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 23, Flujo total: 4, Caudal de CO2: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 99, TR - 4,64 min.

**Ejemplo 21 (P1 y P2):**

15



A una solución de 3-(4-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-2,2-dimetilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (25 mg, 0,052 mmol) en MeOH (10 ml) se le añadió Pd/C (1,098 mg, 10,32 µmol) a TA. La mezcla de reacción se agitó a la presión de un fuelle de hidrógeno durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se evaporó a presión reducida para obtener 30 mg de producto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5 µm; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5 µm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua, con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 10-40 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 40 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (+/-)(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2,2-dimetilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (4 mg, 0,0101 mmol, rendimiento del 19,65 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

20

30 Se usaron dos inyecciones de CL/EM analítica para determinar la pureza final.

Condiciones de la **Inyección 1:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 µm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

25

Condiciones de la **Inyección 2:** Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 µm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B en 3 minutos; Flujo: 1,1 ml/min.

30

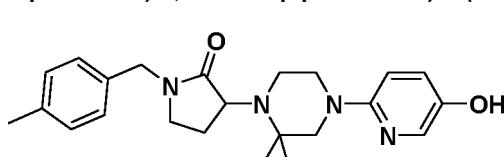
La mezcla racémica se separó mediante CFS.

**Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: Chiralpak AD-H (250 X 21)mm, 5u, % de CO2: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 60,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 220, Número de pico: Tiempo de retención: Pico 1: 3,40: Pico 2: 4,40, Solubilidad: 4 ml en Metanol.

35

40

**Para P1 (Homoquiral): (4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2,2-dimetilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona.**



45

**HPLC:** 95/5 a 5/95 H2O/CH3CN/TFA al 0,05 %, flujo = 1 ml/min, gradiente = 15 min, Sunfire C18 4,6x150 mm: TR = 10,32 min; Pureza a 220 nm: 89,04 %; a 254 nm: 91,96 %. Xbridge Phenyl 3,5um, 4,6x150 mm: TR = 11,57 min; Pureza a 220 nm: 90,7 %; a 254 nm: 94,77 %.

50

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7 µm), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 2,136 min, M(+1) - 395.

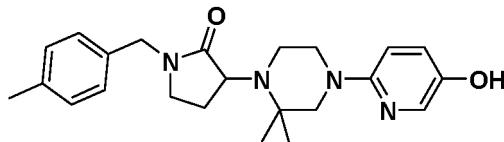
55

**CFS:** CO2 3,0\_Colvent\_100.met; Flujo: - flujo total 3, Caudal de CO2 2,1, Cosolvente (DEA al 0,3 % en metanol) 0,9; Columna: - Chiralpak AD H (250 x 4,6) mm 5 µ; TR 4,12; Pureza a 217 nm:100 %.

**RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, METANOL- $d_4$ )  $\delta$  ppm 7,72 (dd,  $J$ =3,01, 0,56 Hz, 1 H) 7,12 - 7,21 (m, 4 H) 6,75 (dd,  $J$ =9,10, 0,56 Hz, 1 H) 4,49 - 4,55 (m, 1 H) 4,36 - 4,42 (m, 1 H) 4,11 (t,  $J$ =9,25 Hz, 1 H) 3,65 - 3,71 (m, 1 H) 3,51 (dt,  $J$ =3,29, 1,62 Hz, 1 H) 3,42 (dd,  $J$ =11,92, 1,63 Hz, 1 H) 3,04 - 3,27 (m, 3 H) 2,86 - 2,96 (m, 2 H) 2,48 (dt,  $J$ =11,40, 3,58 Hz, 1 H) 2,04 - 2,15 (m, 3 H) 1,29 (s, 3 H) 1,17 (s, 3 H).

5

**Para P2 (Homoquiral): 3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-2,2-dimetilpiperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona.**



10 **HPLC:** 95/5 a 5/95 H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN/TFA al 0,05 %, flujo = 1 ml/min, gradiente = 15 min, Sunfire C<sub>18</sub> 4,6x150 mm: TR = 10,32 min; Pureza a 220 nm: 86,63 %; a 254 nm: 88,45 %. Xbridge Phenyl 3,5um, 4,6x150 mm: TR = 11,566 min; Pureza a 220 nm: 89,57 %; a 254 nm: 92,52 %.

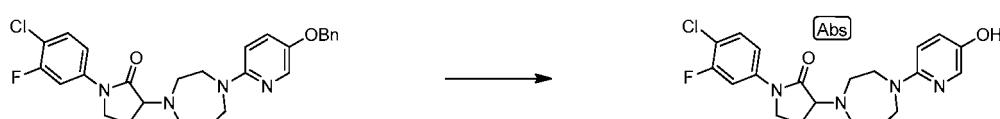
15 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu\text{m}$ ), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,1:7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 2,133 min, M(+1) - 395.

20 **CFS:** CO<sub>2</sub> 3,0\_Colvente\_100.met; Flujo: - flujo total 3, Caudal de CO<sub>2</sub> 2,1, Cosolvente (DEA al 0,3 % en metanol) 0,9, Columna: - Chiralpak AD H (250 x 4,6) mm 5  $\mu$ ; TR 6,07; Pureza a 217 nm:100 %.

25 **RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, METANOL- $d_4$ )  $\delta$  ppm 7,71 (dd,  $J$  = 3,04, 0,60 Hz, 1 H) 7,11 - 7,21 (m, 5 H) 6,76 (d,  $J$  = 0,56 Hz, 1 H) 4,53 (s, 1 H) 4,34 - 4,42 (m, 1 H) 4,11 (t,  $J$  = 9,19 Hz, 1 H) 3,65 - 3,71 (m, 1 H) 3,38 - 3,51 (m, 1 H) 3,18 - 3,25 (m, 2 H) 3,03 - 3,16 (m, 1 H) 2,86 - 2,96 (m, 2 H) 2,47 (dt,  $J$  = 11,28, 3,55 Hz, 1 H) 2,04 - 2,11 (m, 1 H) 1,27 - 1,33 (m, 3 H) 1,16 (s, 3 H).

25 **Ejemplo 22 (P1 y P2):**

30 **Ejemplo 22 (P1) (Homoquiral): 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)pirrolidin-2-ona**



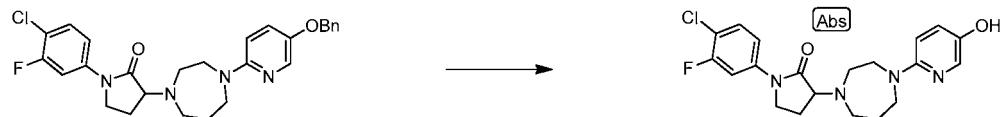
35 A una solución agitada de 3-(4-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)-1-(4-chloro-3-fluorofenil)pirrolidin-2-ona (0,186 g, 0,376 mmol) en metanol (10 ml) se le añadió Pd/C (0,04 g, 0,376 mmol) a TA. La mezcla de reacción se conectó a un fuelle de hidrógeno a través de una curva de vacío y se agitó a TA durante 18 h. Masa de producto deseada principal, la masa de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró para obtener 0,15 g de producto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante SCP para obtener 1-(4-chloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)pirrolidin-2-ona (4 mg, 9,39  $\mu\text{mol}$ , rendimiento del 2,497 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

40 **CLEM:** Disolvente A: 5 % de ACN, 95 % de Agua, NH4OAC 10 mM, Disolvente B: 95 % de ACN, 5 % de agua, NH4OAC 10 mM, Caudal: 4 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x4,6)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Tiempo (min): 0--4, % de B: 0-100, TR - 1,474 min, M(+1)-405.

45 **Selección quiral:** Volumen de inyección: 7, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OJ-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,6, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 99, TR - 2,78 min.

50 **RMN de  $^1\text{H}$ :** 400 MHz, DMSO- $d_6$ :  $\delta$  2,12-2,16 (m, 2H), 2,31-2,34 (m, 1H), 2,45-2,49 (m, 1H), 3,19-3,22 (m, 1H), 3,35-3,38 (m, 1H), 3,43-3,45 (m, 2H), 3,53-3,64 (m, 3H), 3,80-3,92 (m, 4H), 4,59 (t,  $J$  = 19,60 Hz, 1H), 6,85 (d,  $J$  = 9,20 Hz, 1H), 7,30-7,33 (m, 1H), 7,54-7,57 (m, 1H), 7,64-7,69 (m, 2H), 7,86 (dd,  $J$  = 12,00, Hz, 1H).

55 **Ejemplo 22 (P2) (Homoquiral): 1-(4-chloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)pirrolidin-2-ona.**



55 A una solución agitada de 3-(4-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)-1-(4-chloro-3-fluorofenyl)pirrolidin-2-ona

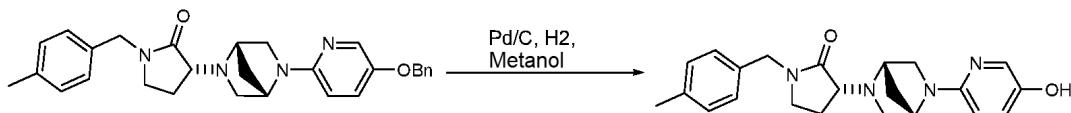
(0,186 g, 0,376 mmol) en metanol (10 ml) se le añadió Pd/C (0,04 g, 0,376 mmol) a TA. La mezcla de reacción se conectó a un fuelle de hidrógeno a través de una curva de vacío y se agitó a TA durante 18 h. Masa de producto deseada principal, la masa de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró para obtener el producto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante SCP para obtener 1-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)-1,4-diazepan-1-il)pirrolidin-2-ona (10 mg, 0,023 mmol, rendimiento del 6,18 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

**5 CLEM:** Disolvente A: 5 % de ACN, 95 % de agua, NH4OAC 10 mM, Disolvente B: 95 % de ACN, 5 % de agua, NH4OAC 10 mM, Caudal: 4 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x4,6)mm, 2,7 µm, Tiempo (min): 0---4, % de B: 0-100, TR - 1,468 min, M(+1)-405.

**10 Selección quiral:** Volumen de inyección: 4, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Chiralcel OJ-H (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,5, Flujo total: 3, Caudal de CO2: 1,95, Caudal de cosolvente: 1,05, % de cosolvente: 35, Contrapresión: 99, TR - 6,14 min.

**15 RMN de 1H:** 400 MHz, DMSO-d6: δ 2,12-2,16 (m, 2H), 2,31-2,34 (m, 1H), 2,45-2,49 (m, 1H), 3,19-3,22 (m, 1H), 3,35-3,38 (m, 1H), 3,43-3,45 (m, 2H), 3,53-3,64 (m, 3H), 3,80-3,92 (m, 4H), 4,59 (t, J = 19,60 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 9,20 Hz, 1H), 7,30-7,33 (m, 1H), 7,54-7,57 (m, 1H), 7,64-7,69 (m, 2H), 7,86 (dd, J = 12,00, Hz, 1H).

#### Ejemplo 23 (Homoquiral):



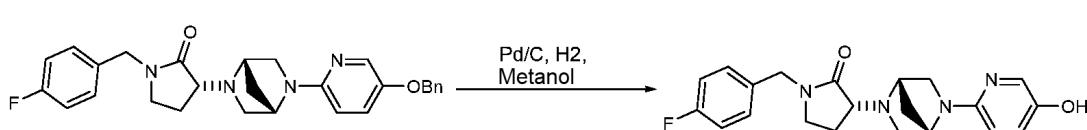
**20 A** una solución de (R)-3-((1S,4S)-5-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (0,18 g, 0,142 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió Pd/C (0,15 g, 0,141 mmol) y la mezcla se agitó a TA a la presión de un globo de hidrógeno durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, se disolvió en 2 ml de DMF y se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5 µm; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5 µm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 10-45 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 45 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (R)-3-((1S,4S)-5-(5-hidroxipiridin-2-il)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (4 mg, 9,83 µmol, rendimiento del 6,92 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

**25 CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, B: 5 % de Agua:95 %, Acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 µm, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0---100, TR - 1,171 min, M(+1) - 379.

**30 RMN de H:** 400 MHz, DMSO-d6: δ 1,71-1,81 (m, 3H), 2,07-2,11 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,73 (d, J = 10,00 Hz, 1H), 3,00-3,17 (m, 4H), 3,22 (d, J = 9,60 Hz, 1H), 3,35-3,37 (m, 1H), 3,88 (s, 1H), 4,24 (d, J = 14,80 Hz, 1H), 4,30 (d, J = 14,80 Hz, 1H), 4,40 (s, 1H), 6,39 (d, J = 8,80 Hz, 1H), 7,02 (dd, J = 12,00, Hz, 1H), 7,06 (d, J = 7,60 Hz, 2H), 7,13 (d, J = 8,00 Hz, 2H), 7,67 (d, J = 2,80 Hz, 1H), 8,73 (s, 1H).

**35 Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Whelk-01(R,R) (250 X 4,6)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,7, Flujo total: 4, Caudal de CO2: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 101. TR - 5,7 min.

#### Ejemplo 24 (Homoquiral):



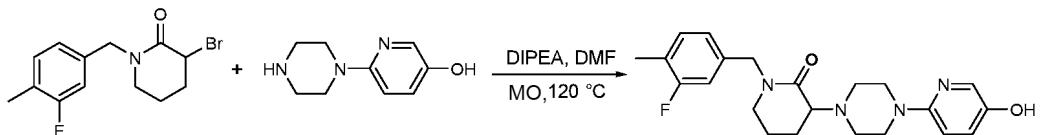
**40 A** una solución de (R)-3-((1S,4S)-5-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-(4-fluorobencil)pirrolidin-2-ona (0,18 g, 0,194 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió Pd/C (0,15 g, 0,141 mmol) y la mezcla se agitó a TA a la presión de un fuelle de hidrógeno durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, se disolvió en 2 ml de DMF y se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5 µm; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5 µm; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 10-35 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 35 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac (R)-1-(4-fluorobencil)-3-((1S,4S)-5-(5-hidroxipiridin-2-il)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)pirrolidin-2-ona (11 mg, 0,028 mmol, rendimiento del 14,66 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

**CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, B: 5 % de agua:95 %, Acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7 µm, Tiempo (min): 0---3, % de B: 0--100, TA -1,07 min, M(+1) - 383.

**RMN de  $^1\text{H}$ :** 400 MHz, MeOD:  $\delta$  1,91-1,98 (m, 3H), 2,27-2,31 (m, 1H), 2,99 (d,  $J$  = 11,60 Hz, 1H), 3,20-3,30 (m, 3H), 3,34-3,43 (m, 2H), 3,50 (d,  $J$  = 10,00 Hz, 1H), 4,09 (s, 1H), 4,35 (d,  $J$  = 14,80 Hz, 1H), 4,45 (d,  $J$  = 15,20 Hz, 1H), 4,50 (s, 1H), 6,51 (d,  $J$  = 9,60 Hz, 1H), 7,05-7,09 (m, 2H), 7,15 (dd,  $J$  = 12,00, Hz, 1H), 7,27-7,30 (m, 2H), 7,68 (d,  $J$  = 2,80 Hz, 1H).

**Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-2 (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,8, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 101, TR - 3,75 min.

**Ejemplo 25 (P1 y P2):**



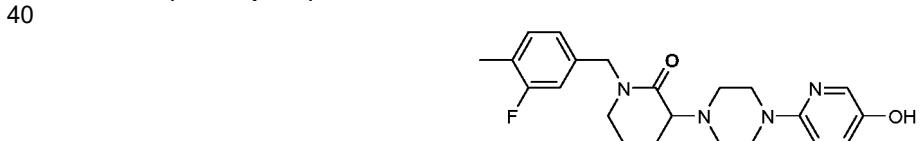
A una solución agitada de clorhidrato de 6-(piperazin-1-il)piridin-3-ol (70 mg, 0,325 mmol) en DMF seca (1,5 ml) se le añadió DIPEA (0,170 ml, 0,974 mmol) y 3-bromo-1-(3-fluoro-4-metilbencil)piperidin-2-ona (97 mg, 0,325 mmol) y la mezcla se calentó con MO a 120 °C durante 90 min. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se concentró para retirar la DMF. El producto en bruto tal cual se purificó mediante ISCO. El compuesto en bruto se purificó mediante ISCO (columna de gel de sílice de 40 g, eluida con acetato de etilo al 50 %/Pet éter) para obtener 25 (una mezcla racémica); 1-(3-fluoro-4-metilbencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)piperidin-2-ona (60 mg, 0,151 mmol, rendimiento del 46,4 %) en forma de una goma de color marrón. La mezcla racémica se sometió a CFS Quiral para obtener **P1**; 1-(3-fluoro-4-metilbencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)piperidin-2-ona (11,1 mg, 0,026 mmol, rendimiento del 8,07 %) y **P2**; 1-(3-fluoro-4-metilbencil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)piperidin-2-ona (9,6 mg, 0,023 mmol, rendimiento del 7,13 %).

**Método de purificación por CFS:**

**Condiciones de CFS analítica:** Columna/dimensiones: celulosa Lux-2 (250 X 4,6)mm, 5u, % de CO<sub>2</sub>: 60 %, % de cosolvente: 40 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 4,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 244.

**Condiciones de CFS preparativa:** Columna/dimensiones: celulosa Lux-2 (250 X 21,5)mm, 5u, % de CO<sub>2</sub>: 60 %, % de cosolvente: 45 % (DEA al 0,25 % en metanol), Flujo total: 75,0 g/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura: 25 °C, UV: 244, Número de pico: Tiempo de retención: Pico 1: 4,20: Pico 2: 6,00, Solubilidad: 10 ml en metanol, Capacidad de carga/Iny: 6 mg/ml, N.º total de inyecciones: 6, Tiempo total para la purificación 0,50 horas, Detalles del instrumento: Marca/Modelo: Thar CFS-80.

**Para P1 (Homoquiral):**

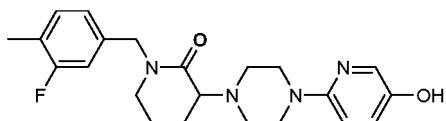


**RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 8,98 - 8,92 (m, 1H), 7,75 - 7,71 (m, 1H), 7,28 - 7,21 (m, 1H), 7,08 - 7,04 (m, 1H), 7,01 - 6,95 (m, 2H), 6,73 - 6,67 (m, 1H), 4,52 - 4,40 (m, 3H), 3,29 - 3,17 (m, 6H), 3,16 - 3,08 (m, 1H), 2,98 - 2,90 (m, 2H), 2,70 - 2,62 (m, 2H), 2,23 - 2,19 (m, 3H), 1,91 - 1,75 (m, 4H).

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7 µm), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,0:1,7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 1,99 min, M(+1) -399.

**Pureza quiral:** Volumen de inyección: 7, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-2 (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,4, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 100, TR - 4,12 min.

**Para P2 (Homoquiral):**

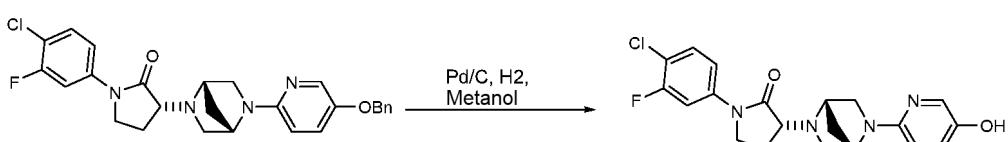


**RMN de  $^1\text{H}$ :** (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 9,05 - 8,90 (m, 1H), 7,73 (d,  $J$  = 2,5 Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,05 (dd,  $J$  = 9,0, 3,0 Hz, 1H), 7,00 - 6,95 (m, 2H), 6,70 (d,  $J$  = 9,0 Hz, 1H), 4,46 (d,  $J$  = 13,1 Hz, 2H), 3,28 - 3,08 (m, 7H), 2,94 (d,  $J$  = 5,0 Hz, 2H), 2,66 (d,  $J$  = 6,0 Hz, 2H), 2,21 (d,  $J$  = 1,5 Hz, 3H), 1,86 (s. a., 3H), 1,75 - 1,65 (m, 1H).

**CLEM:** Columna-Ascentis Express C18 (50X2,1 mm-2,7  $\mu\text{m}$ ), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), Flujo = 1ML/MIN, Tiempo: % de B: 0,0:0,1:7:100,0:3,0:100,0:3,2:0,0, TR - 1,99 min, M(+1) -399.

**Pureza quirial:** Volumen de inyección: 7, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-2 (4,6X250)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,3, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 94, TR - 4,67 min.

#### 15 Ejemplo 26 (Homoquiral):



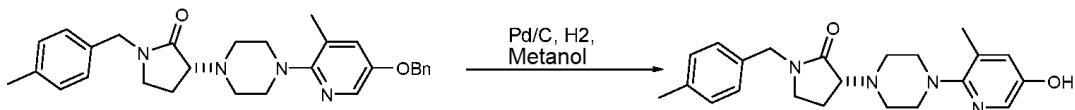
20 A una solución de 3-((1S,4S)-5-(5-(benciloxi)piridin-2-il)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-(4-chloro-3-fluorofenil)pirrolidin-2-ona (0,18 g, 0,215 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió Pd/C (0,11 g, 0,103 mmol) y la mezcla se agitó a TA a la presión de un fuelle de hidrógeno durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, se disolvió en 2 ml de DMF y se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con TFA al 0,1 %; Gradiente: 0-20 % de B en 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 20 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener 1-(4-chloro-3-fluorofenil)-3-((1S,4S)-5-hidroxypiridin-2-il)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)pirrolidin-2-ona (2 mg, 4,96  $\mu\text{mol}$ , rendimiento del 2,305 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

25 **CLEM:** A: 95 % de Agua: 5 % de acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, B: 5 % de Agua:95 %, Acetonitrilo; NH4OAC 10 mM, Flujo: 1,1 ml/min, Temp: 50 °C, Columna: Ascentis Express C18 (50x2,1)mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Tiempo (min): 0---3, % de B: 0--100, TR - 1,302 min, M (+1) - 403.

30 **RMN de  $^1\text{H}$ :** 400 MHz, MeOD:  $\delta$  2,12-2,26 (m, 4H), 2,61 (t,  $J$  = 12,00 Hz, 1H), 3,51-3,54 (m, 1H), 3,72 (sa, 3H), 3,80-3,93 (m, 3H), 4,17 (sa, 1H), 6,86 (d,  $J$  = 9,20 Hz, 1H), 7,38-7,51 (m, 3H), 7,55 (s, 1H), 7,78-7,81 (m, 1H).

35 **Selección quirial:** Volumen de inyección: 7, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-4 (250 X 4,6)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26, Flujo total: 4, Caudal de CO<sub>2</sub>: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 98, TR - 4,43 min.

#### 40 Ejemplo 27 (Homoquiral):



45 A una solución de (R)-3-(4-(5-(benciloxi)-3-metilpiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (0,15 g, 0,169 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió Pd/C (0,1 g, 0,094 mmol) y la mezcla se agitó a TA a la presión de un fuelle de hidrógeno durante la noche. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La masa de reacción se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, se disolvió en 2 ml de DMF y se sometió a SCP. El material en bruto se purificó a través de CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Waters Xbridge C18, 19x150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Columna protectora: Waters XBridge C18, 19x10mm, 5  $\mu\text{m}$  Fase móvil A: 5:95 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Fase móvil B: 95:5 Acetonitrilo:agua con NH4OAc 10 mM; Gradiente: 10-45 % de B durante 25 minutos, seguido de una retención de 10 minutos al 45 % de B y una retención de 5 minutos al 100 % de B; Flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron usando un evaporador centrífugo Genevac para obtener (R)-3-(4-(5-hidroximethylpiridin-2-il)piperazin-1-il)-1-(4-metilbencil)pirrolidin-2-ona (6 mg, 0,015 mmol, rendimiento del 9,15 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

**CLEM:** Disolvente A: 5 % de ACN, 95 % de Agua, NH4OAC 10 mM, Disolvente B: 95 % de ACN, 5 % de agua, NH4OAC 10 mM, Caudal: 4 ml/min, Temp: 50 °C,

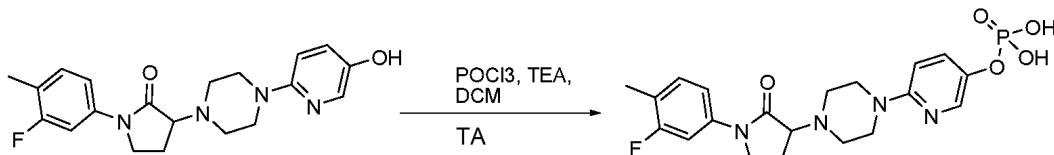
Columna: Ascentis Express C18 (50x4,6)mm, 2,7 µm, Tiempo (min): 0---4, % de B: 0-100, TR - 2,112 min, M(+1) -381.

**RMN de 1H:** 400 MHz, DMSO-d6: δ 2,08 (s, 3H), 2,21 (s, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,35-2,41 (m, 2H), 3,26-3,32 (m, 8H), 4,36-4,49 (m, 4H), 6,98-7,11 (m, 1H), 7,16-7,23 (m, 4H), 7,72 (d, J = 2,80 Hz, 1H).

**Selección quiral:** Volumen de inyección: 5, Cosolvente: DEA al 0,3 % en metanol, Columna: Celulosa Lux-4 (250 X 4,6)mm, 5u, Temperatura de la columna: 26,9, Flujo total: 4, Caudal de CO2: 2,4, Caudal de cosolvente: 1,6, % de cosolvente: 40, Contrapresión: 100, TR - 4,58 min.

10 **Ejemplo 28:**

2: dihidrógeno fosfato de 6-(4-(1-(3-fluoro-4-metilfenil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazin-1-il)piridina-3-ilo



15 A una solución de 1-(3-fluoro-4-metilfenil)-3-(4-(5-hidroxipiridin-2-il)piperazin-1-il)pirrolidin-2-ona (55 mg, 0,148 mmol) en 1,0 ml de DCM seco y TRIETILAMINA (0,145 ml, 1,039 mmol) a -20 °C se le añadió POCl<sub>3</sub> (0,069 ml, 0,742 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 h. A la mezcla de reacción se le añadieron 2 ml de agua. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 18 h. La finalización de la reacción se controló mediante CLEM. La mezcla de reacción se concentró para obtener 0,1 g de residuo de producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC Prep de fase inversa. Después de la finalización de la purificación, las fracciones se liofilizaron para obtener dihidrógeno fosfato de 6-(4-(1-(3-fluoro-4-metilfenil)-2-oxopirrolidin-3-il)piperazin-1-il)piridina-3-ilo (23,56 mg, 0,051 mmol, rendimiento del 34,5 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

20 **HPLC:** COLUMNA: CHIRAL PAK ADH (250 X 4,6 mm), 5 micrómetros, FASE MÓVIL: DEA al 0,2 % n-HEXANO:ETANOL: 80:20, TR - 26,88 min.

25 **CLEM:** Columna-Ascentis Express C8 (50X2,1 mm-2,7 µm), FaseM A: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (98:02), FaseM B: NH4C00H 10 mM EN AGUA:ACN (02:98), TR - 0,8 min, M(+1) - 451.

**RMN de 1H:** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,99 - 2,13 (m, 4 H) 2,21 (d, J = 1,51 Hz, 2 H) 2,31 - 2,37 (m, 4 H) 2,57 - 2,71 (m, 2 H) 2,88 - 3,01 (m, 2 H) 3,61 - 3,81 (m, 3 H) 6,74 (d, J = 8,53 Hz, 1 H) 7,04 - 7,20 (m, 1 H) 7,25 - 7,44 (m, 3 H) 7,63 (dd, J = 12,80, 2,26 Hz, 1 H) 7,91 (s, a., 1 H).

Métodos biológicos

30 **Ensayo de unión de radioligandos.** Se realizaron experimentos de unión para determinar la unión a receptores de NMDA del subtipo NR2B en prosencéfalos de ratas Sprague Dawley macho de 8-10 semanas de edad (Harlan, Países Bajos) usando <sup>3</sup>H Ro 25-6981 (Mutel V; Buchy D; Klingelschmidt A; Messer J; Bleuel Z; Kemp JA; Richards JG. Journal of Neurochemistry, 1998, 70(5): 2147-2155. Las ratas se decapitaron sin anestesia usando una guillotina (aprobada por el comité de ética animal) y los cerebros recogidos se congelaron instantáneamente y se almacenaron a -80 °C durante 3-6 meses para la preparación de la membrana.

35 Para la preparación de la membrana, los prosencéfalos de rata se descongelaron en hielo durante 20 minutos en tampón de homogeneización compuesto por KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM (pH ajustado a 7,4 con KOH), EDTA 1 mM, Tritón X 100 al 0,005 % y un cóctel de inhibidores de proteasas (Sigma Aldrich). Los cerebros descongelados se homogeneizaron con un homogeneizador Dounce y se centrifugaron a 48000 X g durante 20 min. El sedimento se resuspendió en tampón frío y se homogeneizó de nuevo usando un homogeneizador Dounce. Posteriormente, el homogeneizado se dividió en alícuotas, se congeló instantáneamente y se almacenó a -80 °C durante no más de 3-4 meses.

40 Para realizar el ensayo de unión de competencia, se añadió homogeneizado de membrana descongelado a cada pocillo de una placa de 96 pocillos (20 µg/pocillo). Los compuestos experimentales se diluyeron en serie en DMSO al 100 % y se añadieron a cada fila de la placa de ensayo para conseguir las concentraciones de compuesto deseadas, manteniendo la concentración de DMSO en la placa de ensayo al 1,33 % del volumen de reacción final. A continuación, se añadió <sup>3</sup>H Ro 25-6981 (4 nM) a la placa de ensayo. Después de la incubación durante 1 hora a temperatura ambiente, el radioligando unido a membrana se recogió en placas de filtro GF/B (se trató con PEI al 0,5 % durante 1 hora a temperatura ambiente). Las placas del filtro se secaron a 50 °C durante 20 minutos, se incubaron con microscint 20 durante 10 minutos y por último, los recuentos se leyeron en TopCount (Perkin Elmer). La unión no específica se determinó usando MK-0657 (la preparación de este compuesto se describe como ejemplo 1 en el documento WO 2004 108705 (40 µM). Los valores de CPM se convirtieron en % de inhibición y las curvas de concentración-respuesta se trazaron usando un software hecho a medida. Cada experimento se repitió al menos dos veces para obtener los valores finales de K<sub>i</sub> de unión para compuestos experimentales. Usando este ensayo, el compuesto del ejemplo 14, P-1 muestra una K<sub>i</sub> de unión de 4 nM.

**Ensayo de ocupación ex vivo.** Este ensayo demuestra que el compuesto del ejemplo 1 ocupa receptores del subtipo NR2B residentes en el cerebro en animales después de la dosificación. A ratones CD-1 macho de 7-9 semanas de edad se les administró por vía intravenosa compuestos experimentales en un vehículo que consistía en dimetilacetamida al 10 %, PEG-400 al 40 %, hidroxipropil betaciclodextrina al 30 % y agua al 30 %, y los prosencéfalos

5 se recogieron 15 minutos después de la dosis mediante decapitación. Las muestras de cerebro se congelaron instantáneamente de forma inmediata y se almacenaron a -80 °C. Al día siguiente, las muestras de cerebro dosificadas se descongelaron en hielo durante 15-20 minutos seguido de homogeneización usando Polytron durante 10 segundos en un tampón de homogeneización en frío compuesto por KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM (pH ajustado a 7,4 con KOH), EDTA 1 mM, Tritón X 100 al 0,005 % y un cóctel de inhibidores de proteasas (Sigma Aldrich). Los homogeneizados en bruto se 10 homogeneizaron adicionalmente usando un homogeneizador Dounce y se congelaron ultrarrápidamente alícuotas de membrana homogeneizadas de todos los animales y se almacenaron a -80 °C hasta su uso posterior. Todo el proceso de homogeneización se realizó sobre hielo.

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

$$\% \text{ de Ocupación (animal A)} = 100 - \left( \frac{\text{CPM específica del animal A}}{\text{CPM promedio del grupo de control}} \times 100 \right)$$

30 Usando este procedimiento, el compuesto del ejemplo 14, P1 muestra una ocupación de receptores NR2B del 86 % después de una dosis i.v. de 3 mg/Kg. Los niveles de fármaco se determinaron mediante espectroscopia de masas de la manera habitual. Los niveles de fármaco en el plasma sanguíneo fueron de 1018 nM a esta dosis, y los niveles de fármaco en el tejido cerebral homogeneizado fueron de 1342 nM.

**Ensayo electrofisiológico de hERG.** Los compuestos experimentales se evaluaron para determinar la actividad de hERG en células HEK 293 que expresaban de forma estable canales hERG usando la técnica de pinzamiento zonal. 35 Se colocaron en la cámara experimental cubreobjetos con células que expresaban hERG y se perfundieron con una solución compuesta por (en mM): NaCl 140, KCl 4, CaCl<sub>2</sub> 1,8, MgCl<sub>2</sub> 1, Glucosa 10, HEPES 10 (pH 7,4, NaOH) a temperatura ambiente. Las pipetas zonales de borosilicato tenían resistencias de punta de 2-4 Mohm cuando se cargaban con una solución interna que contenía: KCl 130, MgCl<sub>2</sub> 1, CaCl<sub>2</sub> 1, EGTA 10, HEPES 10, ATP-K<sub>2</sub> 5 (pH 7,2, KOH). Las células se pinzaron a -80 mV en una configuración de célula completa usando un amplificador de 40 pinzamiento zonal Axopatch 200B (instrumentos Axon, Union City, CA) controlado mediante el software pClamp (Axon instruments). Tras la formación de un gigasello, se aplicó repetidamente el siguiente protocolo de voltaje (0,05 Hz) para registrar corrientes de cola: etapa de despolarización de -80 mV a +20 mV durante 2 segundos seguida de una etapa de hiperpolarización a -65 mV (3 segundos) para producir corrientes de cola y después, de vuelta al potencial de mantenimiento. Los compuestos se aplicaron después de la estabilización de la corriente de cola. En primer lugar, 45 se registraron corrientes de cola en presencia de solución extracelular sola (control) y, posteriormente, en solución extracelular que contenía concentraciones crecientes de compuesto. Cada concentración de compuesto se aplicó durante 2-5 minutos. El porcentaje de inhibición en cada concentración se calculó como reducción de la corriente de cola máxima con respecto a la corriente de cola máxima registrada en presencia de solución de control. El análisis de datos se realizó en un software hecho a medida. Los porcentajes de inhibición a diferentes concentraciones se trazaron 50 para obtener una curva de concentración-respuesta, que posteriormente se ajustó con una ecuación de cuatro parámetros para calcular el valor de Cl<sub>50</sub> de hERG. Usando este procedimiento, el compuesto del ejemplo 14, P-1 es un inhibidor deficiente del canal hERG, con una Cl<sub>50</sub> = 8,9 µM.

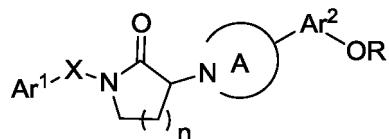
**Ensayo de natación forzada en ratón (mFST).** El ensayo de natación forzada (FST, por sus siglas en inglés) es un 55 modelo animal utilizado para evaluar los compuestos antidepresivos en estudios preclínicos. El FST se realizó de forma similar al método de Porsolt *et al.* con modificaciones (Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. *Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants*. *Arch Int Pharmacodyn Thér* 1977; 229: 327-36). En este paradigma, se fuerza a los ratones a nadar en un cilindro lleno de agua del que no se puede escapar. En estas condiciones, los ratones inicialmente tratarán de escapar y con el tiempo desarrollarán un comportamiento de inmovilidad; este 60 comportamiento es interpretado como una estrategia pasiva de afrontamiento del estrés o un comportamiento similar a la depresión. Los tanques de natación se colocaron dentro de una caja hecha de plástico. Cada tanque estaba separado de los demás por láminas de plástico opaco a la altura de los cilindros. Se sometió al ensayo a tres ratones a la vez. Se realizaron sesiones de natación durante 6 min colocando ratones en cilindros de vidrio individuales (46 cm de altura X 20 cm de diámetro) que contenían agua (profundidad de 20 cm, mantenida a 24-25 °C). A este nivel de agua, la cola del ratón no toca el fondo del recipiente. Se consideraba que el ratón estaba inmóvil cuando permanecía 65

5 flotando pasivamente sin luchar en el agua y solo hacia los movimientos necesarios para mantener su nariz/cabeza por encima del agua y para mantenerse a flote. La duración de la inmovilidad se evaluó durante los 6 min totales del ensayo y se expresó como duración (s) de la inmovilidad. Cada ratón se sometió a ensayo solo una vez. Al final de cada sesión, los ratones se secaron con un paño seco y se devolvieron a su jaula de origen colocados sobre una manta térmica para evitar la hipotermia. El agua se reemplazó después de cada ensayo. Todas las sesiones de ensayo se registraron con una cámara de video (Sony Handicam, Model: DCR-HC38E; PAL) y la puntuación se realizó usando el software Forced Swim Scan, versión 2.0 (Clever Systems Inc., Reston, VA, EE.UU; véase Hayashi E, Shimamura M, Kuratani K, Kinoshita M, Hara H. *Automated experimental system capturing three behavioral components during murine forced swim test*. *Life Sci.* 28 de febrero de 2011; 88(9-10): 411-7 y Yuan P, Tragon T, Xia M, Leclair CA, Skoumbourdis AP, Zheng W, Thomas CJ, Huang R, Austin CP, Chen G, Guitart X. *Phosphodiesterase 4 inhibitors enhance sexual pleasure-seeking activity in rodents*. *Pharmacol Biochem Behav*. 2011; 98(3): 349-55). Para los ensayos NCE: El compuesto de ensayo se administró en ratones 15 min antes de la sesión de natación por vía i.v. y se registró el tiempo de inmovilidad durante los siguientes 6 min. Al final del FST, el ratón se sacrificó mediante el método de decapitación rápida y se recogieron muestras de plasma y de cerebro que se almacenaron a -80 °C hasta su posterior análisis. En el ensayo de natación en ratones, el compuesto del ejemplo 1 se administró por vía intravenosa en un vehículo de hidroxipropil betaciclodexrina al 30 %/tampón de citrato al 70 % de pH 4 a un volumen de dosificación de 5 ml/Kg. El compuesto del ejemplo 14, P-1 demostró una disminución estadísticamente significativa del tiempo de inmovilidad a 3 mg/Kg en estas condiciones. Los niveles de fármaco fueron de 314 nM en el plasma y 410 nM en el cerebro a esta dosis. La ocupación del receptor NR2B se determinó como se ha publicado anteriormente y se determinó que era del 67 %.

20 25 Será evidente para un experto en la materia que la presente divulgación no se limita a la divulgación anterior y que puede realizarse de otras maneras específicas sin apartarse de los atributos esenciales de la misma. Por tanto, se desea que la presente divulgación se considere a todos los efectos ilustrativa y no restrictiva, haciéndose referencia a las reivindicaciones adjuntas, en lugar de a la divulgación anterior, y se pretende, por tanto, que la misma abarque todos los cambios que se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I

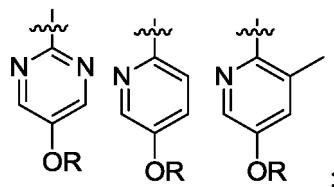


5

I

donde:

Ar<sup>1</sup> es fenilo y está sustituido con 0-3 sustituyentes seleccionados entre ciano, halo, alquilo, haloalquilo y haloalcoxi;  
 10 Ar<sup>2</sup>-OR se selecciona entre



15 R es hidrógeno o un resto de profármaco seleccionado entre el grupo que consiste en ésteres de aminoácidos, ácidos fosfónicos, ácido alcoxifosfonato, carbamatos de alquilo, carbamatos de aminoácidos, fosforamidatos de alquilo, fosforamidatos de arilo y sulfamatos;  
 X es un enlace o alquileno C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;  
 n es 1 o 2;  
 20 el anillo A es piperazinilo, homopiperazinilo o 2,5-diazabiciclo[2.2.1]heptanos, piperazin-2-ona y está sustituido con 0-4 sustituyentes seleccionados entre halo, alquilo, hidroxi o alcoxi;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 2. El compuesto de la reivindicación 1 donde n es 1 y el anillo A es piperazinilo sustituido con 0-2 sustituyentes alquilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

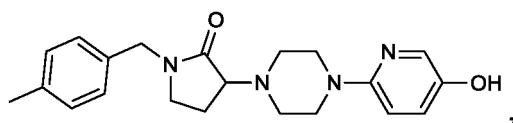
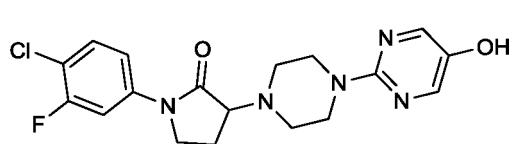
30 3. El compuesto de la reivindicación 1, donde Ar<sup>1</sup> es fenilo sustituido con 0-3 sustituyentes seleccionados entre ciano, halo, alquilo, haloalquilo y haloalcoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

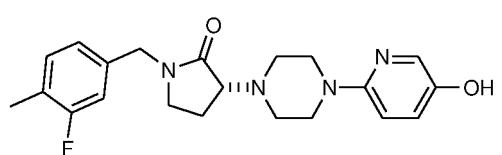
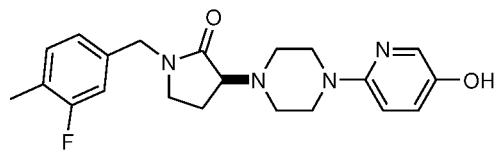
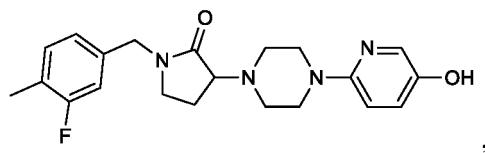
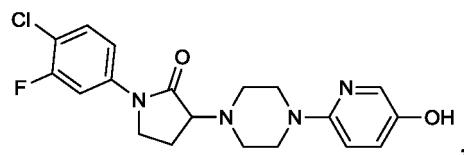
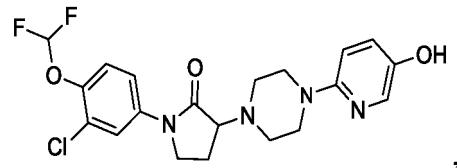
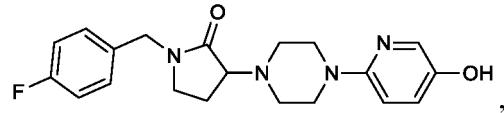
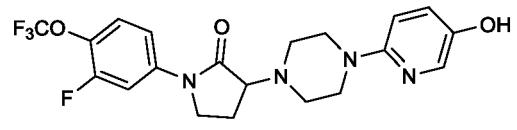
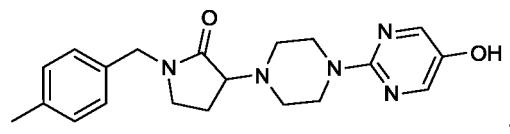
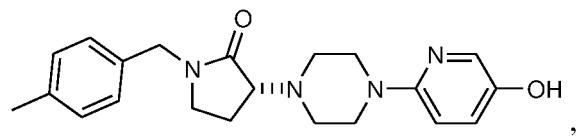
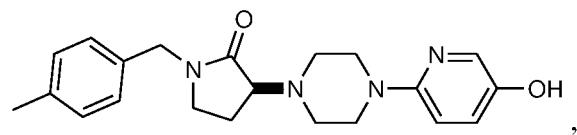
4. El compuesto de la reivindicación 1, donde X es metileno; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

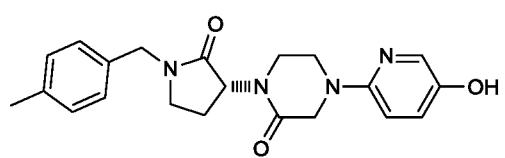
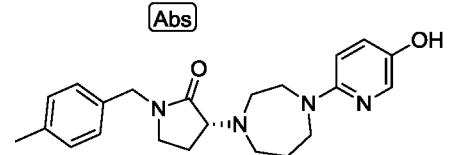
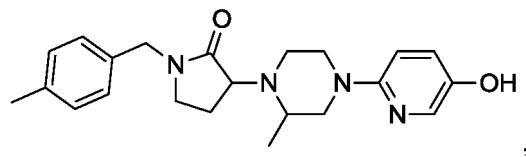
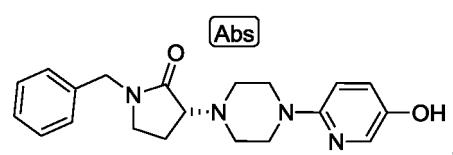
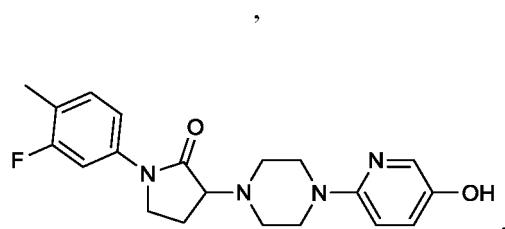
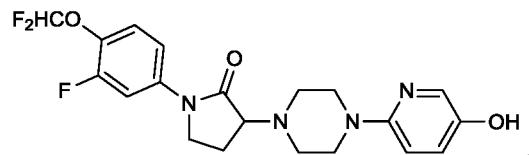
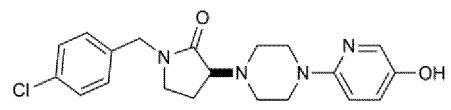
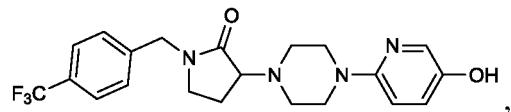
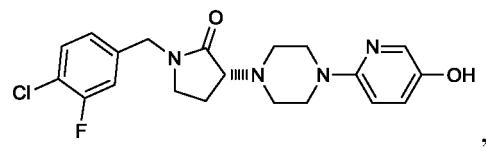
5. El compuesto de la reivindicación 1, donde R es hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

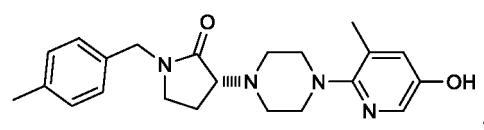
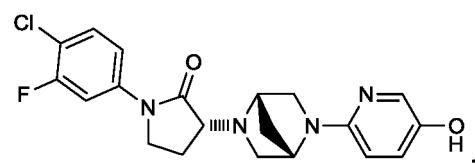
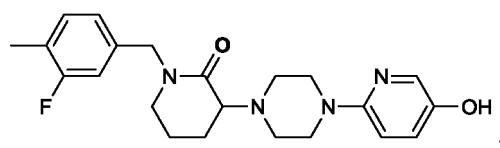
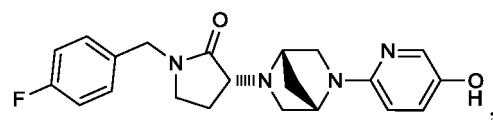
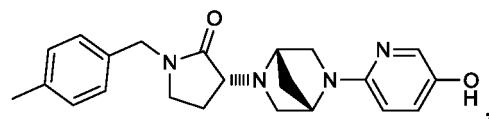
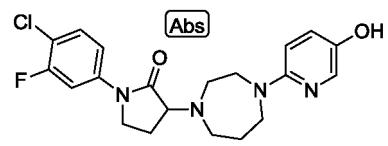
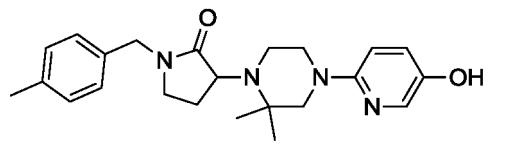
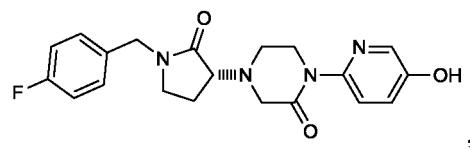
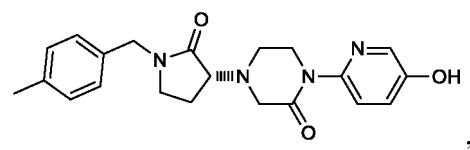
6. El compuesto de la reivindicación 1, donde R es P(=O)(OH)<sub>2</sub>; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 7. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en

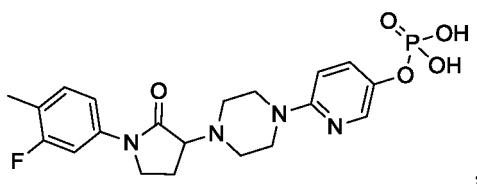






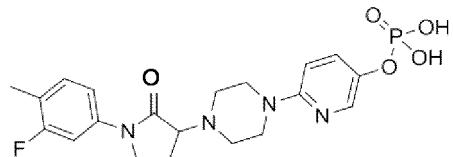


y



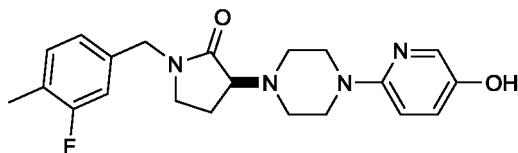
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 8. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura



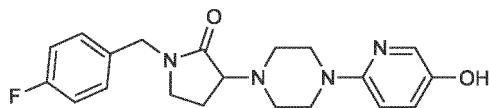
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 9. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura



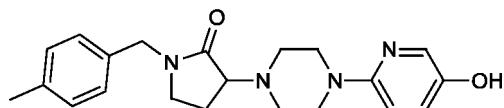
- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura



- 20 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura



- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 30 12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para el tratamiento de la depresión, la enfermedad de Alzheimer, el dolor neuropático o la enfermedad de Parkinson.

- 35 14. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para el uso de la reivindicación 13 dirigido al tratamiento de la depresión.

- 40 15. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para el uso de la reivindicación 13 dirigido al tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

16. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para el uso de la reivindicación 13 dirigido al tratamiento del dolor neuropático.