



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Organización y
Digitalización CSA Ltda



PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

09-364

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: NUEVOS ANTAGONISTAS DE RECEPTORES Y SUS MÉTODOS DE
USO

SOLICITANTE: GLAXO GROUP LIMITED.

DIRECCIÓN: Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford,
Middlesex UB6 ONN. Inglaterra

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 05 Enero de 2009

P2008/000235

OLARTE RAISBECK


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-000364- -00000-0000

Fecha: 2009-01-05 16:14:15 Dep. 2020 NUECREACIÓN
Tra. 11 PATENTE IYI Eya: 378 FASE NACIONAL
Act 411 PRESENTACIÓN Folios: 238

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2008/000235

SOLICITUD DE:

1



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: GLAXO GROUP LIMITED

Dirección: Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford Middlesex UB6 0NN

Nacionalidad o Domicilio: Británica

Lugar de Constitución: Inglaterra

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A, Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2007/056675 Fecha Julio 3, 2007

Publicación Internacional No. WO 2008/003697 Fecha Enero 10, 2008

6

Título (54) NUEVOS ANTAGONISTAS DE RECEPTORES Y SUS MÉTODOS DE USO

Clasificación Internacional (51) C07D 207/28, C07D 401/06, A61K 31/402, A61P 25/28, A61P 29/00

Prioridad
SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

GB

GB

GB

GB

(32) Fecha

Julio 6, 2006

Noviembre 15, 2006

Marzo 19, 2007

Junio 13, 2007

(31) Número de Solicitud

0613473.8

0622825.8

0705263.2

0711439.0

9

Comprobante de pag N . 09-

Fecha Enero 5 de 2009



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No. 06-08.221



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Declaración Regla 4.17 del PCT.



Declaraciones.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



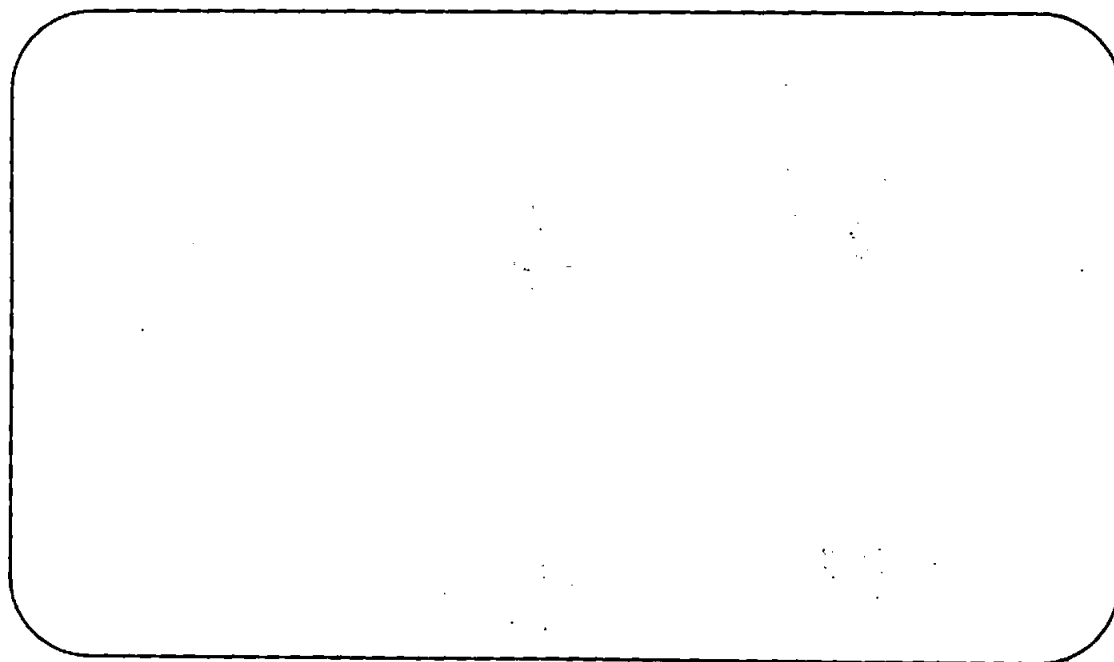
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional



FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: [Signature]

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

LISTA DE INVENTORES

PCT/EP2007/056675

3

Laura, J CHAMBERS,
GlaxoSmithKline,
New Frontiers Science
Park South, Third Avenue,
Harlow Essex CM19 5 AW
Gran Bretaña
Nacionalidad: Británico

Robert GLEAVE,
GlaxoSmithKline,
New Frontiers Science
Park South, Third Avenue,
Harlow Essex CM19 5 AW
Gran Bretaña
Nacionalidad: Británico

Stefan SENGER,
GlaxoSmithKline,
Gunnels Wood Road,
Stevenage Hertfordshire SG1 2NY
Gran Bretaña
Nacionalidad: Alemana

Daryl, Simon WALTER,
GlaxoSmithKline,
New Frontiers Science
Park South, Third Avenue,
Harlow Essex CM19 5 AW
Gran Bretaña
Nacionalidad: Británico

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 147
FECHA : ENERO 5 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-000364- -00000-0000

Fecha: 2009-01-05 16:14:15 Dep. 2020 NUECREACION
Itm. 11 PATENTE Y II Eje: 378 FASE NACIONAL I
Act. 411 PRESENTACION Folios: 238

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARTE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	14445465	05/01/2009	6,976,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL :	\$ 540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE:

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

9

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE
GLAXO GROUP LIMITED

PODER DE REPRESENTACION

Bilingüe inglés- español otorgado en Brentford, Middlesex, Inglaterra el 13 de agosto de 2003 y firmado por Peter John Giddings, Apoderado y Funcionario autorizado.

Certificado de Notario De Pinna en español firmado por James Kerr Milligan

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

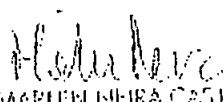
1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento Público
2. ha sido firmado por James Kerr Milligan
3. Quien ejerce funciones de Notario público
4. Lleva el sello del Notario público

CERTIFICADO

5. En Londres
6. El 14 agosto 2003
7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
8. No. 6229474
9. Gran Sello de la Oficina de Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
10. Firma legible de J. Garbrah- Por el Secretario de Estado

Si el documento se usa en un país que no pertenece a la Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961 debe pasar por la sección consular de la Misión que representa el país.

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 21 agosto-03.

Marlén Neira Castro

MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7/11/01

Yo, el infrascrito JAMES KERR MILLIGAN, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

CERTIFICO:

QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don PETER JOHN GIDDINGS, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad inglesa denominada "GLAXO GROUP LIMITED", Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Inglaterra, e inscrita en la Oficina de Registro de Sociedades bajo el número 305979, con domicilio social en Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, Inglaterra;

QUE el citado Señor Don PETER JOHN GIDDINGS está debidamente suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase en nombre y representación de dicha Sociedad en virtud de un Poder otorgado por la referida Sociedad fechado 3 de julio de 2002.

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario expido el presente Certificado que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy trece de agosto del año dos mil tres.

JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



X

APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by James Kerr Milligan
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Attesté

5. at London/à Londres

6. date 14 August 2003

7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sans No G229474

9. Stamp:
timbre:

10. Signature: J. Gortchak



[Handwritten signature]

For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10
-- BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, GB
by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck and Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

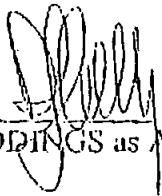
Poder

El suscrito,

domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:


Peter John GIDDINGS as Attorney and Authorised Official

Date/Fecha: 13 August 2003

City/Country/Ciudad,País: Brentford, Middlesex, England

9

Box No. VIII(iii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO CLAIM PRIORITY

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 213; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII(iii) and 51*bis*.1(a)(iii)

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51*bis*.1(a)(iii)):

in relation to international application No. **PCT/EP2007/056675**

GLAXO GROUP LIMITED is entitled to claim priority of earlier application No. **0613473.8**, **0622825.8**, **0705263.2** and **0711439.0** filed in the United Kingdom by virtue of the following:

- (i) transfer of entitlement from inventors **Laura J CHAMBERS**, **Robert GLEAVE**, **Stefan SENGGER** and **Daryl Simon WALTER** to **GlaxoSmithKline Services Unlimited** by way of employment contract
- (ii) an assignment from **GlaxoSmithKline Services Unlimited** to **Glaxo Group Limited** dated 05 September 2007

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(iii)".

Form PCT/RO/101 (declaration sheet (iii)) (March 2001; reprint January 2003)

See Notes to the request form

10

Box No. VIII(ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(I) to (v) (in general and the specific Notes to Box No. VIII(ii)). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

in relation to international application No. **PCT/EP2007/056675**

GLAXO GROUP LIMITED is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

- (i) transfer of entitlement from inventors **Laura J CHAMBERS, Robert GLEAVE, Stefan SENER and Daryl Simon WALTER** to GlaxoSmithKline Services Unlimited by way of employment contract
- (ii) an assignment from GlaxoSmithKline Services Unlimited to Glaxo Group Limited dated 05 September 2007

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(ii)".

Form PCT/RO/101 (declaration sheet (ii)) (March 2001; reprint January 2003)

See Notes to the request form

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
10 January 2008 (10.01.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/003697 A1

(51) International Patent Classification:

C07D 207/28 (2006.01) A61K 31/402 (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61K 31/4015 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/EP2007/056675

(22) International Filing Date: 3 July 2007 (03.07.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

0613473.8	6 July 2006 (06.07.2006)	GB
0622825.8	15 November 2006 (15.11.2006)	GB
0705263.2	19 March 2007 (19.03.2007)	GB
0711439.0	13 June 2007 (13.06.2007)	GB

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO GROUP LIMITED (GB/GB); Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CHAMBERS, Laura, J [GB/GB]; GlaxoSmithKline, New Frontiers Science Park South, Third Avenue, Harlow Essex CM19 5AW (GB). GLEAVE, Robert [GB/GB]; GlaxoSmithKline, New Frontiers Science Park South, Third Avenue, Harlow Essex CM19 5AW (GB). SENER, Stefan [DE/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage Hertfordshire SG1 2NY (GB). WALTER, Daryl, Simon [GB/GB]; GlaxoSmithKline, New Frontiers Science Park South, Third Avenue, Harlow Essex CM19 5AW (GB).

(74) Agents: BILLSON, Stan, Catherine et al.; GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property (CN925.1), 980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

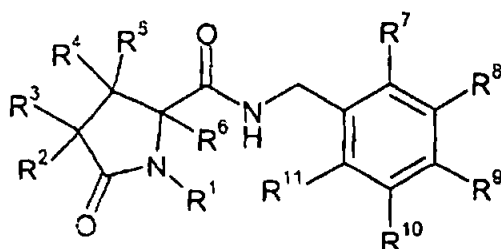
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: SUBSTITUTED N-PHENYLMETHYL -5-OXO-PROLINE-2-AMIDES AS P2X7-RECEPTOR ANTAGONISTS AND THEIR METHODS OF USE



(I)

(57) Abstract: The present invention relates to novel oxo-prolinamide derivatives of formula (I) which modulate P2X7 receptor function and are capable of antagonizing the effects of ATP at the P2X7 receptor and the use of such compounds or pharmaceutical compositions thereof in the treatment of disorders mediated by the P2X7 receptor, for example pain, inflammation and neurodegeneration.

SUBSTITUTED N-PHENYLMETHYL -5-OXO-PROLINE-2-AMIDES AS P2X7-RECEPTOR
ANTAGONISTS AND THEIR METHODS OF USE

The present invention relates to heterocyclic amide derivatives which modulate P2X7
receptor function and are capable of antagonizing the effects of ATP at the P2X7
5 receptor (P2X7 receptor antagonists); to processes for their preparation; to
pharmaceutical compositions containing them; and to the use of such compounds in
therapy.

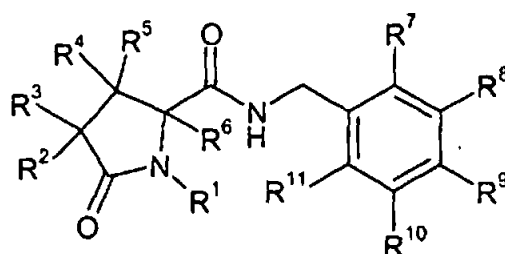
The P2X7 receptor is a ligand-gated ion-channel which is expressed in cells of the
10 hematopoietic lineage, e.g. macrophages, microglia, mast cells, and lymphocytes (T
and B) (see, for example, Collo, *et al.* *Neuropharmacology*, Vol.36, pp1277-1283
(1997)), and is activated by extracellular nucleotides, particularly adenosine
triphosphate (ATP). Activation of P2X7 receptors has been implicated in giant cell
formation, degranulation, cytolytic cell death, CD62L shedding, regulation of cell
15 proliferation, and release of proinflammatory cytokines such as interleukin 1 beta (IL-
1 β) (e.g. Ferrari, *et al.*, *J. Immunol.*, Vol.176, pp3877-3883 (2006)) and tumour
necrosis factor alpha (TNF α) (e.g. Hide, *et al.* *Journal of Neurochemistry*, Vol.75,
pp965-972 (2000)). P2X7 receptors are also located on antigen presenting cells,
keratinocytes, parotid cells, hepatocytes, erythrocytes, erythroleukaemic cells,
20 monocytes, fibroblasts, bone marrow cells, neurones, and renal mesangial cells.
Furthermore, the P2X7 receptor is expressed by presynaptic terminals in the central
and peripheral nervous systems and has been shown to mediate glutamate release
in glial cells (Anderson, C. *et al.* *Drug. Dev. Res.*, Vol.50, page 92 (2000)).

25 The localisation of the P2X7 receptor to key cells of the immune system, coupled
with its ability to release important inflammatory mediators from these cells suggests
a potential role of P2X7 receptor antagonists in the treatment of a wide range of
diseases including pain and neurodegenerative disorders. Recent preclinical *in vivo*
studies have directly implicated the P2X7 receptor in both inflammatory and
30 neuropathic pain (Dell'Antonio *et al.*, *Neurosci. Lett.*, Vol.327, pp87-90 (2002),
Chessell, IP., *et al.*, *Pain*, Vol.114, pp386-396 (2005), Honore *et al.*, *J. Pharmacol.*
Exp. Ther., Vol.319, p1376-1385 (2006)) while there is *in vitro* evidence that P2X7
receptors mediate microglial cell induced death of cortical neurons (Skaper, S.D., *et*
al., *Glia*, Vol.54, p234-242 (2006)). In addition, up-regulation of the P2X7 receptor
35 has been observed around β -amyloid plaques in a transgenic mouse model of
Alzheimer's disease (Parvathenani, L. *et al.* *J. Biol. Chem.*, Vol.278(15), pp13309-
13317 (2003)).

B

The present invention provides compounds which modulate P2X7 receptor function and are capable of antagonizing the effects of ATP at the P2X7 receptor (P2X7 receptor antagonists). In a first aspect, a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is provided:

5



(I)

wherein:

R¹ represents C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl, C₃₋₆ cycloalkylmethyl- or pyridinylmethyl-, any of which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or unsubstituted phenyl or benzyl;

R² and R³ independently represent hydrogen, halogen, C₁₋₆ alkyl, arylmethyl-, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl-; and any of said C₁₋₆ alkyl, arylmethyl-, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl- is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

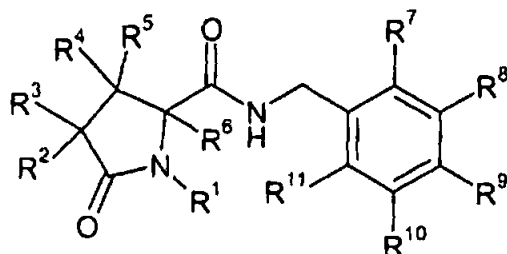
R⁴, R⁵ and R⁶ independently represent hydrogen, fluorine or methyl; and

R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ and R¹¹ independently represent hydrogen, halogen, cyano, C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or phenyl, and any of said C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or phenyl is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or R¹⁰ and R¹¹ together with the carbon atoms to which they are attached form a benzene ring which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

with the proviso that when R⁷ and R¹¹ are both selected from hydrogen or fluorine, at least one of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is a halogen atom, or R⁸, R⁹ and R¹⁰ are selected from the group consisting of hydrogen and CF₃ and one, but not more than one, of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is CF₃.

In one embodiment, a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is provided:

30



(I)

wherein:

R^1 represents C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl, any of which may be optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or unsubstituted phenyl or benzyl;

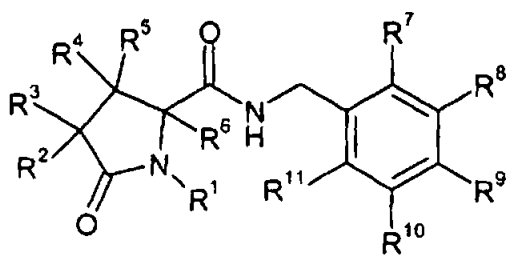
R^2 and R^3 independently represent hydrogen, halogen, C_{1-6} alkyl, arylmethyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl; and any of said C_{1-6} alkyl, arylmethyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl may be optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

R^4 , R^5 and R^6 independently represent hydrogen or fluorine; and

R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} and R^{11} independently represent hydrogen, halogen, cyano, C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl, or phenyl; and any of said C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl or phenyl may be optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

with the proviso that when R^7 and R^{11} independently represent hydrogen or fluorine, at least one of R^8 , R^9 and R^{10} is a halogen atom.

In one embodiment, a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is provided:



(I)

wherein:

R^1 represents C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl, C_{3-6} cycloalkylmethyl- or pyridinylmethyl-, any of which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or unsubstituted phenyl or benzyl;

R^2 and R^3 independently represent hydrogen, halogen, C_{1-6} alkyl, arylmethyl-, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl-; and any of said C_{1-6} alkyl, arylmethyl-,

C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl- is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

R⁴, R⁵ and R⁶ independently represent hydrogen, fluorine or methyl; and

- R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ and R¹¹ independently represent hydrogen, halogen, cyano, C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or phenyl, and any of said C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or phenyl is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or R¹⁰ and R¹¹ together with the carbon atoms to which they are attached form a benzene ring which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;
- with the proviso that when R⁷ and R¹¹ are both selected from hydrogen or fluorine, at least one of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is a halogen atom, or not more than one of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is a CF₃ group.

- As used herein, the term "alkyl" (when used as a group or as part of a group) refers to a straight or branched hydrocarbon chain containing the specified number of carbon atoms. For example, C₁₋₆ alkyl means a straight or branched hydrocarbon chain containing at least 1 and at most 6 carbon atoms. Examples of alkyl include, but are not limited to; methyl (Me), ethyl (Et), n-propyl, i-propyl, n-hexyl and i-hexyl.

- As used herein, the term "alkenyl" refers to a straight or branched hydrocarbon chain containing the specified number of carbon atoms wherein at least one carbon-carbon bond is a double bond. Examples of alkenyl include, but are not limited to ethenyl, propenyl, n-butenyl, i-butenyl, n-pentenyl and i-pentenyl.

- As used herein, the term "alkynyl" refers to a straight or branched hydrocarbon chain containing the specified number of carbon atoms wherein at least one carbon-carbon bond is a triple bond. Examples of alkynyl include, but are not limited to ethynyl, propynyl, butynyl, i-pentynyl, n-pentynyl, i-hexynyl and n-hexynyl.

- The term 'cycloalkyl' unless otherwise stated means a closed 3 to 6 membered non-aromatic ring, for example cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl or cyclohexyl.

- The term 'aryl' as used herein refers to a C₆₋₁₀ monocyclic or bicyclic hydrocarbon ring wherein at least one ring is aromatic. Examples of such groups include phenyl and naphthyl.

The term 'halogen' is used herein to describe, unless otherwise stated, a group

16

selected from fluorine, chlorine, bromine or iodine.

In certain embodiments of the invention, R^1 represents C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl or pyridinylmethyl-, any of which is optionally substituted with
5 1, 2 or 3 halogen atoms; or unsubstituted phenyl or benzyl. In one embodiment, R^1 represents unsubstituted C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl, pyridinylmethyl-, phenyl or benzyl. In another embodiment, R^1 represents unsubstituted C_{1-4} alkyl, C_{3-5} cycloalkyl, pyridinylmethyl-, phenyl or benzyl. In yet another embodiment, R^1 represents methyl or ethyl.

10

In certain embodiments of the invention, R^2 and R^3 independently represent hydrogen, halogen, C_{1-6} alkyl, benzyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl-; and any of said C_{1-6} alkyl, benzyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl- may be optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms.

15

In one embodiment, R^2 and R^3 independently represent hydrogen or halogen; unsubstituted C_{1-6} alkyl, benzyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl-.

In another embodiment, R^2 and R^3 independently represent hydrogen, fluorine or
20 methyl. In a further embodiment, R^2 and R^3 both represent hydrogen.

In one embodiment of the invention, R^4 and R^5 independently represent hydrogen or methyl. In another embodiment, R^6 represents hydrogen or methyl. In a further embodiment, R^4 , R^5 and R^6 all represent hydrogen.

25

In another embodiment of the invention, R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} and R^{11} independently represent hydrogen, halogen, cyano, trifluoromethyl or unsubstituted C_{1-6} alkyl; or R^{10} and R^{11} together with the carbon atoms to which they are attached form an unsubstituted benzene ring. In a further embodiment, R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} and R^{11}
30 independently represent hydrogen, halogen, cyano, methyl or trifluoromethyl; or R^{10} and R^{11} together with the carbon atoms to which they are attached form an unsubstituted benzene ring. In yet another embodiment, R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} and R^{11} independently represent hydrogen, chlorine, fluorine, bromine, methyl or trifluoromethyl.

35

In one embodiment of the invention, there is provided a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein:

R¹ represents unsubstituted C₁₋₄ alkyl, C₂₋₄ alkenyl, C₃₋₅ cycloalkyl, pyridinylmethyl-, phenyl or benzyl;

R² and R³ both represent hydrogen;

R⁴, R⁵ and R⁶ independently represent hydrogen or methyl; and

5 R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ and R¹¹ independently represent hydrogen, chlorine, fluorine, bromine, methyl or trifluoromethyl;

with the proviso that when R⁷ and R¹¹ are both selected from hydrogen or fluorine, at least one of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is a halogen atom, or R⁸, R⁹ and R¹⁰ are selected from the group consisting of hydrogen and CF₃ and one, but not more than one, of R⁸, R⁹ and

10 R¹⁰ is CF₃.

Particular compounds according to the invention include the compounds of Examples 1-136 as shown below, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15 Antagonists of P2X₇ may be useful in preventing, treating, or ameliorating a variety of pain states (e.g. neuropathic pain, chronic inflammatory pain, and visceral pain), inflammation and neurodegeneration, in particular Alzheimer's disease. P2X₇ antagonists may also constitute useful therapeutic agents in the management of rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease.

20

Compounds of the present invention which modulate P2X₇ receptor function and are capable of antagonizing the effects of ATP at the P2X₇ receptor (P2X₇ receptor antagonists) may be competitive antagonists, inverse agonists, negative allosteric modulators or indirect modulators of receptor function.

25

Certain compounds of formula (I) may in some circumstances form acid addition salts thereof. It will be appreciated that for use in medicine compounds of formula (I) may be used as salts, in which case the salts should be pharmaceutically acceptable. Pharmaceutically acceptable salts include those described by Berge, Bighley and
30 Monkhouse, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. Basic compounds of formula (I) may form salts with pharmaceutically acceptable acids including inorganic and organic acids. Such acids include acetic, benzenesulfonic, benzoic, camphorsulfonic, citric, ethanesulfonic, fumaric, gluconic, glutamic, hydrobromic, hydrochloric, isethionic, lactic, maleic, malic, mandelic, methanesulfonic, mucic, nitric, pamoic, pantothenic,
35 phosphoric, succinic, sulfuric, tartaric, p-toluenesulfonic acid, and the like.

Examples of pharmaceutically acceptable salts include those formed from maleic,

18

fumaric, benzoic, ascorbic, pantoic, succinic, hydrochloric, sulfuric, bismethylenesalicylic, methanesulfonic, ethanedisulfonic, propionic, tartaric, salicylic, citric, gluconic, aspartic, stearic, palmitic, itaconic, glycolic, p-aminobenzoic, glutamic, benzenesulfonic, cyclohexylsulfamic, phosphoric and nitric acids.

5

The compounds of formula (I) may be prepared in crystalline or non-crystalline form, and, if crystalline, may optionally be solvated, e.g. as the hydrate. This invention includes within its scope stoichiometric solvates (e.g. hydrates) as well as compounds containing variable amounts of solvent (e.g. water).

10

Compounds of formula (I) are capable of existing in stereoisomeric forms (e.g. diastereomers and enantiomers) and the invention extends to each of these stereoisomeric forms and to mixtures thereof including racemates. The different stereoisomeric forms may be separated one from the other by the usual methods, or
15 any given isomer may be obtained by stereospecific or asymmetric synthesis. In examples where the stereochemical composition of the final product has been determined by chiral HPLC (more specifically by methods (A), (B), (C) or (D) as set out in the Examples), the corresponding stereospecific name and structure have been assigned to the final product where the enantiomeric excess of said product is
20 greater than 70%. Assignment of absolute stereochemistry is based on the known chirality of the starting material. In examples where the composition of the final product has not been characterised by chiral HPLC, the stereochemistry of the final product has not been indicated. However, the chirality of the main component of the product mixture will be expected to reflect that of the starting material and the
25 enantiomeric excess will depend on the synthetic method used and is likely to be similar to that measured for an analogous example (where such an example exists). Thus compounds shown in one chiral form are expected to be able to be prepared in the alternative chiral form using the appropriate starting material. Alternatively, if racemic starting materials are used, it would be expected that a racemic product
30 would be produced and the single enantiomers could be separated by the usual methods. The invention also extends to any tautomeric forms and mixtures thereof.

The subject invention also includes isotopically-labeled compounds, which are identical to those recited in formula (I) and following, but for the fact that one or more
35 atoms are replaced by an atom having an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number most commonly found in nature. Examples of isotopes that can be incorporated into compounds of the invention include isotopes of

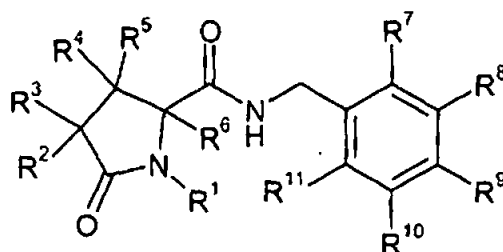
hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, phosphorous, fluorine, iodine, and chlorine, such as ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I and ^{125}I .

10

Compounds of the present invention and pharmaceutically acceptable salts of said compounds that contain the aforementioned isotopes and/or other isotopes of other atoms are within the scope of the present invention. Isotopically-labeled compounds of the present invention, for example those into which radioactive isotopes such as ^3H , ^{14}C are incorporated, are useful in drug and/or substrate tissue distribution assays. Tritiated, i.e., ^3H , and carbon-14, i.e., ^{14}C , isotopes are particularly preferred for their ease of preparation and detectability. ^{11}C and ^{18}F isotopes are particularly useful in PET (positron emission tomography), and ^{125}I isotopes are particularly useful in SPECT (single photon emission computerized tomography). PET and SPECT are useful in brain imaging. Further, substitution with heavier isotopes such as deuterium, i.e., ^2H , can afford certain therapeutic advantages resulting from greater metabolic stability, for example increased *in vivo* half-life or reduced dosage requirements and, hence, may be preferred in some circumstances. Isotopically labeled compounds of formula (I) and following of this invention can generally be prepared by carrying out the procedures disclosed in the Schemes and/or in the Examples below, by substituting a readily available isotopically labeled reagent for a non-isotopically labeled reagent.

Additionally, the compounds of formula (I) may be administered as prodrugs. As used herein, a "prodrug" of a compound of formula (I) is a functional derivative of the compound which, upon administration to a patient, eventually liberates the compound of formula (I) *in vivo*. Administration of a compound of formula (I) as a prodrug may enable the skilled artisan to do one or more of the following: (a) modify the onset of the compound *in vivo*; (b) modify the duration of action of the compound *in vivo*; (c) modify the transportation or distribution of the compound *in vivo*; (d) modify the solubility of the compound *in vivo*; and (e) overcome or overcome a side effect or other difficulty encountered with the compound. Typical functional derivatives used to prepare prodrugs include modifications of the compound that are chemically or enzymatically cleaved *in vivo*. Such modifications are well known to those skilled in the art.

20

Preparation of compounds

(I)

5

Compounds of formula (I), wherein the variables are as defined above, and salts and solvates thereof may be prepared by the methodology described hereinafter, constituting a further aspect of this invention.

10 A process according to the invention for preparing a compound of formula (I) which comprises:

(a) Coupling of a carboxylic acid of formula (2) (or an activated derivative thereof) with an amine of formula (3) (see Scheme 1), wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} and R^{11} are as defined above. Compounds (2) and (3) are optionally protected;

(b) The reaction of a dicarbonyl compound of formula (4), an isocyanide of formula (5) and an amine of formula (6) in a suitable solvent such as methanol and at a suitable temperature such as 100°C (see Scheme 2), wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} and R^{11} are as defined above and R^6 = H or methyl. Compounds (4), (5) and (6) are optionally protected. Processes of this type have been described previously in the chemical literature (e.g. H.Tye, and M.Whittaker, *Org.Biomol.Chem.*, 2004, 2, 813-815; G. C. B. Harriman WO 9900362 A1);

25

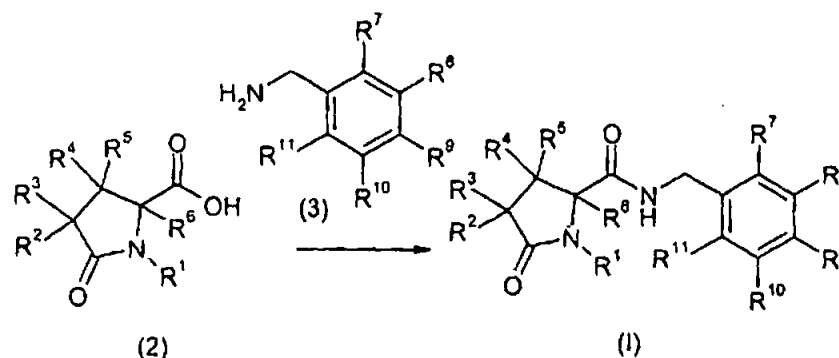
(c) Deprotecting a compound of formula (I) which is protected. Examples of protecting groups and the means for their removal can be found in T.W. Greene and P.G.M. Wuts 'Protective Groups in Organic Synthesis' (J.Wiley and Sons, 3rd Ed. 1999); or

30

(d) Interconversion of compounds of formula (I) to other compounds of formula (I). Examples of conventional interconversion procedures include epimerisation,

oxidation, reduction, alkylation, aromatic substitution, nucleophilic substitution, amide coupling and ester hydrolysis.

Scheme 1.



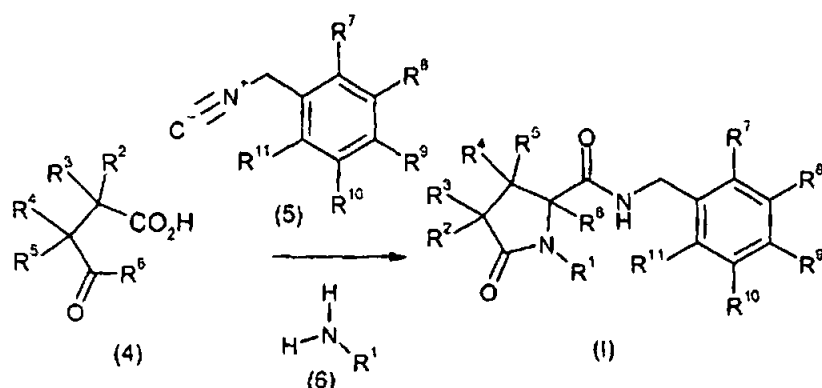
5

The coupling of an acid of formula (2) and an amine of formula (3) typically comprises the use of activating agents, such as N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride or polymer-supported carbodiimide, 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) or 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HOAt), and optionally a suitable base such as a tertiary alkylamine (e.g. diisopropylethylamine, N-ethyl morpholine, triethylamine) or pyridine, in a suitable solvent such as DMF and/or dichloromethane and at a suitable temperature e.g. between 0°C and room temperature. Alternatively the coupling of (2) and (3) may be accomplished by treatment with O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate and a suitable tertiary alkylamine such as diisopropylethylamine in a suitable solvent such as dimethylformamide at a suitable temperature such as room temperature. Alternatively, the compound of formula (2) may be employed as an activated derivative (e.g. acid chloride, mixed anhydride, active ester (e.g. O-acyl-isourea)), and under such circumstances process (a) typically comprises treatment of said activated derivative with an amine (Ogliaruso, M.A.; Wolfe, J.F. in *The Chemistry of Functional Groups* (Ed. Patai, S.) *Suppl.B: The Chemistry of Acid Derivatives, Pt. 1* (John Wiley and Sons, 1979), pp442-8; Beckwith, A.L.J. in *The Chemistry of Functional Groups* (Ed. Patai, S.) *Suppl.B: The Chemistry of Amides* (Ed. Zabricky, J.) (John Wiley and Sons, 1970), pp 73 ff).

20

25

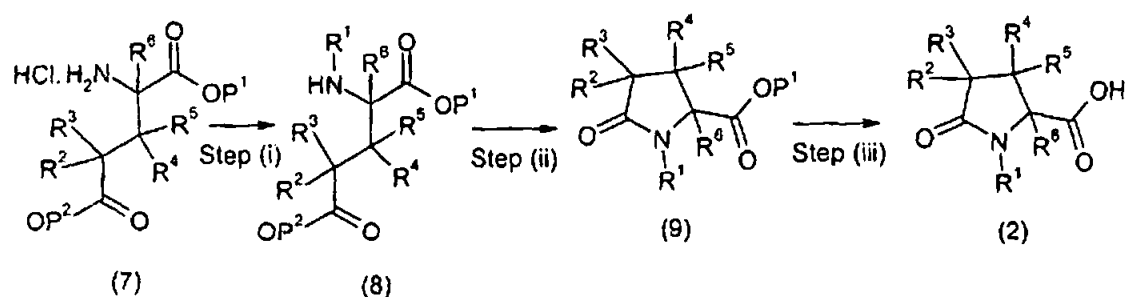
Scheme 2.



Representative methods for the preparation of compounds of formula (2) are shown in Schemes 3-9 below:

5

Scheme 3



10

wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are as defined above, $R^6 = H$ or F , and P^1 and P^2 represent suitable protecting groups such as C_{1-6} alkyl or P^1 and $P^2 = H$.

15 Analogous processes to those described below for the transformations outlined in scheme 3 have been described previously in the chemical literature (e.g. G. Verardo, P. Geatti, E. Pol, and A.G. Giumanini, *Can.J.Chem.*, **80**: 779-788 (2002); T. Godet, *et.al.*, *Organic Letters*, (2004), 6(19), 3281-3284)

20 Step (i) typically comprises initial treatment of (7) with a base such as sodium hydroxide in a suitable solvent such as methanol at a suitable temperature such as $0^\circ C$ followed by reductive alkylation which typically comprises subsequent treatment with an aldehyde or ketone and an acid, such as acetic acid, and then addition of a reducing agent such as sodium borohydride at a suitable temperature such as between $0^\circ C$ and room temperature.

25

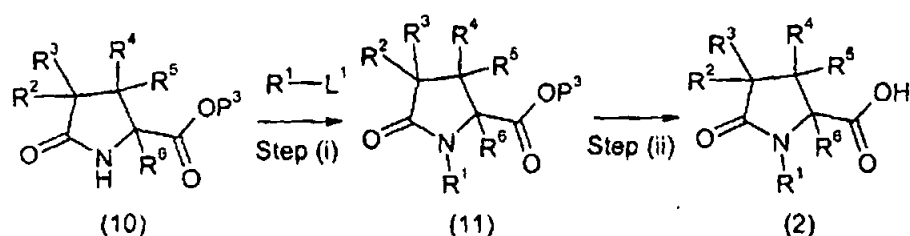
Step (ii) may occur spontaneously, in which case (9) is isolated directly from the reaction of (7) as described in step (i) above, but more typically compound (8) is heated at a suitable temperature, such as 110°C, in a suitable solvent, such as toluene, to afford compound (9).

5

Deprotection step (iii) typically comprises a standard procedure for conversion of a carboxylic ester to an acid, such as use of an appropriate hydroxide salt (e.g. sodium hydroxide) in an appropriate solvent such as methanol at a suitable temperature such as between 0°C and room temperature.

10

Scheme 4



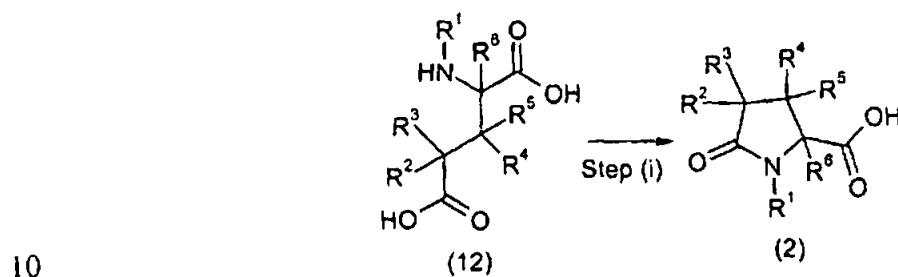
wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are as defined above, $R^6 = H$ or F , L^1 is a suitable group such as halogen (e.g. chlorine or bromine) or a boronic acid or boronic ester and P^3 represents a suitable protecting groups such as C_{1-6} alkyl.

Analogous processes to those described below for the transformations outlined in scheme 4 have been described previously in the chemical literature (e.g. T. Itoh, *et.al.*, *Tetrahedron.*, 59 (2003), 3527-3536; T. Simandan and M.B. Smith, *Synthetic Communications*, 26(9), 1827-1838 (1996)).

Step (i) typically comprises treatment of (10) with a base such as sodium hydride and an alkylating agent such as an alkyl halide in a suitable solvent such as tetrahydrofuran at a suitable temperature such as between 0°C and room temperature or alternatively it may comprise treatment of (10) with an aryl halide or aryl or alkenyl boronic acid (or ester) in a suitable solvent such as toluene in the presence of a suitable catalyst such as a mixture of tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0) and Xantphos™ (9,9-dimethyl-4,5-bis(diphenylphosphino)xanthene) and a suitable base such as cesium carbonate at a suitable temperature such as 120°C.

Deprotection (ii) typically comprises a standard procedure for conversion of a carboxylic ester to an acid, such as use of an appropriate hydroxide salt (e.g. sodium hydroxide) in an appropriate solvent such as methanol at a suitable temperature such as between 0°C and room temperature; or use of an appropriate acid (e.g. trifluoroacetic acid) in an appropriate solvent such as dichloromethane at a suitable temperature such as between 0°C and room temperature.

Scheme 5

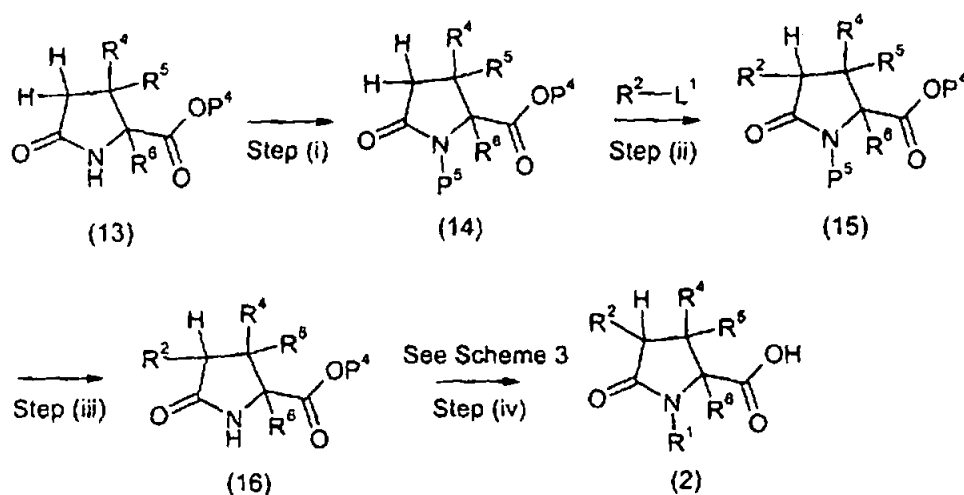


wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are as defined above and $R^6 = H$ or F .

Analogous processes to those described below for the transformation outlined in scheme 5 have been described previously in the chemical literature (e.g. S. Aoki, et.al., *Tetrahedron*, 60 (2004) 7053-7059)

Step (i) typically comprises heating (12) in an autoclave or sealed tube in a suitable solvent, such as water, and at a suitable temperature such as from 100-140°C with or without microwave irradiation.

Scheme 6



wherein R^1 , R^4 and R^5 are as defined above, R^2 represents a group as defined above other than hydrogen or halogen, $R^6 = H$ or F , L^1 is a suitable leaving group such as halogen (e.g. chlorine or bromine), and P^4 and P^5 represent suitable protecting groups such as C_{1-6} alkyl and C_{1-6} alkoxycarbonyl respectively.

5

Analogous processes to those described below for the transformations outlined in scheme 6 have been described previously in the chemical literature (e.g. A. Bassoli, *et.al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 2518-2525).

Step (i) typically comprises protection of (13) by standard protocols such as treatment with an alkoxycarbonyl anhydride, such as di-tertbutyl dicarbonate, and a base such as triethylamine and a catalyst such as 4-dimethylaminopyridine in a suitable solvent such as dichloromethane at a suitable temperature such as room temperature.

15

Step (ii) typically comprises treatment of (14) with a base such as lithium bis(trimethylsilyl)amide and an alkylating agent such as an alkyl halide in a suitable solvent such as tetrahydrofuran at a suitable temperature such as between -78°C and room temperature.

20

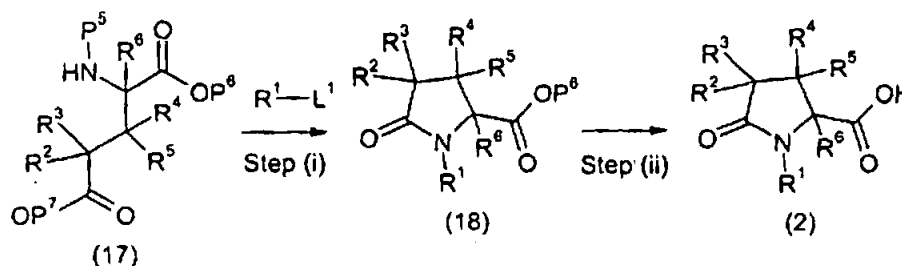
Step (iii) typically comprises deprotection of (15) by standard protocols such as, for the case when P^5 is a tertbutoxy carbonyl group, treatment with hydrogen chloride in a suitable solvent such as dioxane and at a suitable temperature such as room temperature.

25

Step (iv) typically comprises the process described above for the steps shown in Scheme 4.

Scheme 7

30



26

wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are as defined above and $R^6 = H$ or F . P^5 , P^6 and P^7 represent suitable protecting groups, for example P^5 can be a C_{1-6} alkoxycarbonyl and P^6 and P^7 can be C_{1-6} alkyl (P^6 and P^7 need not be the same). L^1 is a suitable leaving group such as halogen (e.g. chlorine or bromine).

5

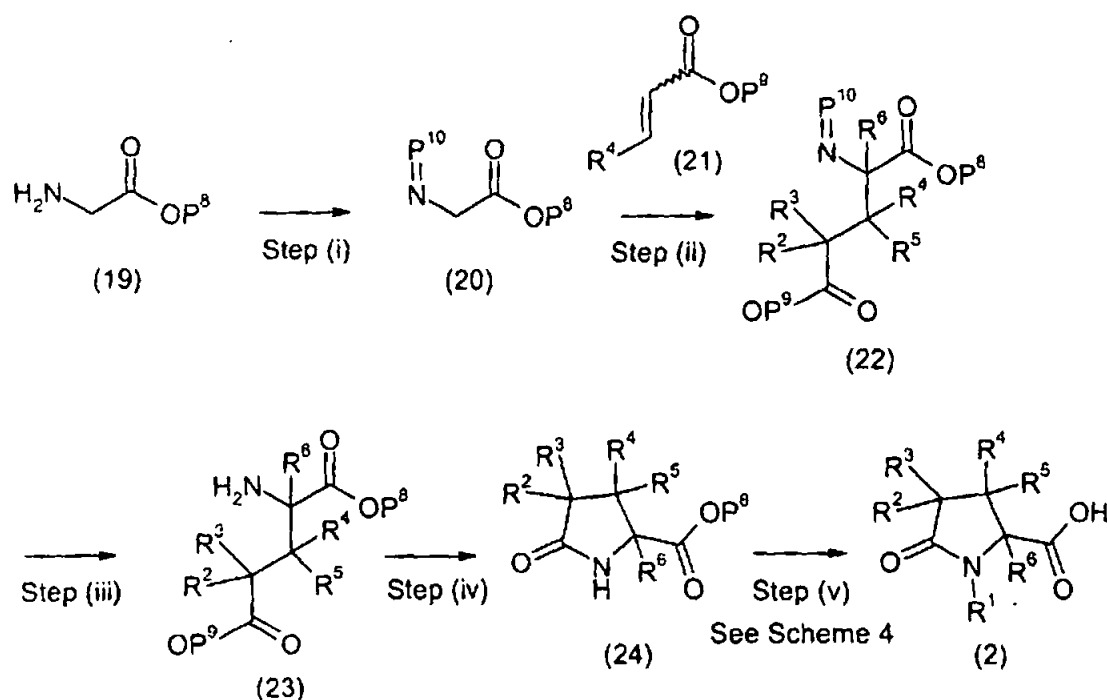
Step (i) typically comprises treatment of (17) with a suitable base, such as potassium hexamethyldisilazide, and an alkylating agent such as an alkyl halide in a suitable solvent such as tetrahydrofuran at a suitable temperature such as between -78°C and room temperature.

10

Step (ii) typically comprises a standard procedure for conversion of a carboxylic ester to an acid, such as treatment with a suitable acid (e.g. trifluoroacetic acid) in an appropriate solvent such as dichloromethane at a suitable temperature such as room temperature.

15

Scheme 8



20 wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are as defined above and $R^6 = H$ or F . P^8 , P^9 and P^{10} represent suitable protecting groups such as C_{1-6} alkyl in the cases of P^8 and P^9 (P^8 and P^9 need not be the same) and a group derived from a suitable acyclic or cyclic ketone in the case of P^{10} .

9A

Analogous processes to those described below for the transformations outlined in steps (i)-(iii) of scheme 8 have been described previously in the chemical literature (e.g. J. Wehbe, *et.al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, 14 (2003), 1123-1126).

5

Step (i) typically comprises treatment of (19) with a suitable ketone, such as (1*R*,2*R*,5*R*)-2-hydroxypinan-3-one, and a lewis acid such as boron trifluoride etherate in a suitable solvent such as toluene at a suitable temperature such as 110°C.

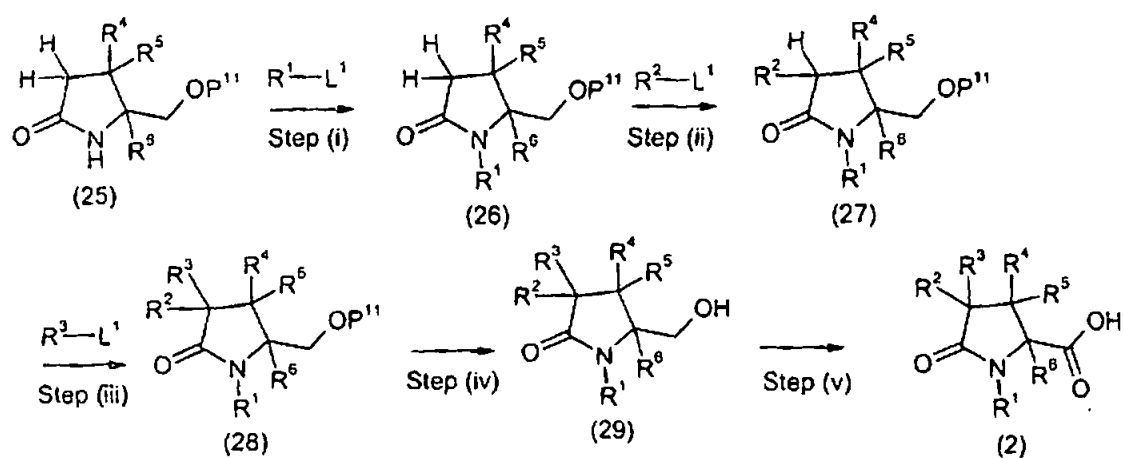
10 Step (ii) typically comprises treatment of (20) with a Grignard reagent, such as methyl magnesium bromide, and a base, such as 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene, followed by treatment with an unsaturated ester (21), such as ethyl crotonate in a suitable solvent such as tetrahydrofuran at a suitable temperature such as -30°C.

15 Step (iii) typically comprises a standard procedure for conversion of an imine to an amine, such as treatment with a suitable acid (e.g. 15% aqueous citric acid) in an appropriate solvent such as tetrahydrofuran at a suitable temperature such as room temperature.

20 Step (iv) typically comprises heating (23) in a suitable solvent, such as toluene, at a suitable temperature such as between room temperature and 120°C.

Step (v) typically comprises the process described above for the steps shown in Scheme 4.

25

Scheme 9

wherein R^1 , R^4 , R^5 and R^6 are as defined above, R^2 and R^3 each represent a group as defined above other than halogen, L^1 and L^2 are suitable leaving groups such as halogen (e.g. chlorine or bromine), and P^{11} represents a suitable protecting group such as trityl.

Step (i) typically comprises treatment of (25) with a base such as sodium hydride and an alkylating agent such as an alkyl halide in a suitable solvent such as dimethylformamide at a suitable temperature such as between 0°C and room temperature.

Step (ii) typically comprises treatment of (26) with a base such as lithium diisopropylamide and an alkylating agent such as an alkyl halide in a suitable solvent such as tetrahydrofuran at a suitable temperature such as between -78°C and room temperature.

Step (iii) typically comprises treatment of (27) with a base such as lithium diisopropylamide and an alkylating agent such as an alkyl halide in a suitable solvent such as tetrahydrofuran at a suitable temperature such as between -78°C and room temperature.

Step (iv) typically comprises a standard procedure for deprotecting an alcohol. For example, when P^{11} is a trityl group, treatment of (28) with a suitable acid such as Amberlyst 15® in a suitable solvent such as methanol and at a suitable temperature such as room temperature.

Step (v) typically comprises a standard protocol for oxidation of an alcohol to the corresponding carboxylic acid such as treatment of the alcohol (29) with an oxidising agent such as a combination of sodium chlorite, TEMPO (2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy free radical) and bleach (sodium hypochlorite solution) in a suitable solvent such as a mixture of aqueous sodium phosphate monobasic buffer solution and acetonitrile at a suitable temperature such as 40°C.

Step (ii) or step (iii) can be omitted as required to prepare compounds where $R^2 = H$ or $R^3 = H$ respectively.

99

Compounds of the general formulae (3), (4), (5), (6), (7), (10), (12), (13), (17), (19), (21) and (25) are typically either available from commercial sources or can be prepared by a person skilled in the art using methods described in the chemical literature (or using analogous methods).

Where relevant, pharmaceutically acceptable salts may be prepared conventionally by reaction with the appropriate acid or acid derivative.

10 Clinical Indications

It is believed that as compounds of the present invention modulate P2X7 receptor function and are capable of antagonizing the effects of ATP at the P2X7 receptor they may be useful in the treatment of pain, including acute pain, chronic pain, chronic articular pain, musculoskeletal pain, neuropathic pain, inflammatory pain, visceral pain, pain associated with cancer, pain associated with migraine, tension headache and cluster headaches, pain associated with functional bowel disorders, lower back and neck pain, pain associated with sprains and strains, sympathetically maintained pain; myositis, pain associated with influenza or other viral infections such as the common cold, pain associated with rheumatic fever, pain associated with myocardial ischemia, post operative pain, cancer chemotherapy, headache, toothache and dysmenorrhea.

Chronic articular pain conditions include rheumatoid arthritis, osteoarthritis, rheumatoid spondylitis, gouty arthritis and juvenile arthritis.

Pain associated with functional bowel disorders includes non-ulcer dyspepsia, non-cardiac chest pain and irritable bowel syndrome.

Neuropathic pain syndromes include: diabetic neuropathy, sciatica, non-specific lower back pain, trigeminal neuralgia, multiple sclerosis pain, fibromyalgia, HIV-related neuropathy, post-herpetic neuralgia, trigeminal neuralgia, and pain resulting from physical trauma, amputation, phantom limb syndrome, spinal surgery, cancer, toxins or chronic inflammatory conditions. In addition, neuropathic pain conditions include pain associated with normally non-painful sensations such as "pins and needles" (paraesthesias and dysesthesias), increased sensitivity to touch (hyperesthesia), painful sensation following innocuous stimulation (dynamic, static,

thermal or cold allodynia), increased sensitivity to noxious stimuli (thermal, cold, mechanical hyperalgesia), continuing pain sensation after removal of the stimulation (hyperpathia) or an absence of or deficit in selective sensory pathways (hypoalgesia).

- 5 Other conditions which could potentially be treated by compounds of the present invention include fever, inflammation, immunological diseases, abnormal platelet function diseases (e.g. occlusive vascular diseases), impotence or erectile dysfunction; bone disease characterised by abnormal bone metabolism or resorption; hemodynamic side effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID's) and
- 10 cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors, cardiovascular diseases; neurodegenerative diseases and neurodegeneration, neurodegeneration following trauma, tinnitus, dependence on a dependence-inducing agent such as opioids (e.g. morphine), CNS depressants (e.g. ethanol), psychostimulants (e.g. cocaine) and nicotine; complications of Type I diabetes, kidney dysfunction, liver dysfunction (e.g. hepatitis,
- 15 cirrhosis), gastrointestinal dysfunction (e.g. diarrhoea), colon cancer, overactive bladder and urge incontinence. Depression and alcoholism could potentially also be treated by compounds of the present invention.

- Inflammation and the inflammatory conditions associated with said inflammation
- 20 include skin conditions (e.g. sunburn, burns, eczema, dermatitis, allergic dermatitis, psoriasis), meningitis, ophthalmic diseases such as glaucoma, retinitis, retinopathies, uveitis and of acute injury to the eye tissue (e.g. conjunctivitis), inflammatory lung disorders (e.g. asthma, bronchitis, emphysema, allergic rhinitis, respiratory distress syndrome, pigeon fancier's disease, farmer's lung, chronic obstructive pulmonary
- 25 disease (COPD), airways hyperresponsiveness); gastrointestinal tract disorders (e.g. aphthous ulcer, Crohn's disease, atopic gastritis, gastritis varioliforme, ulcerative colitis, coeliac disease, regional ileitis, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, gastrointestinal reflux disease); organ transplantation and other conditions with an inflammatory component such as vascular disease, migraine, periarteritis
- 30 nodosa, thyroiditis, aplastic anaemia, Hodgkin's disease, sclerodoma, myaesthesia gravis, multiple sclerosis, sarcoidosis, nephrotic syndrome, Bechet's syndrome, gingivitis, myocardial ischemia, pyrexia, systemic lupus erythematosus, polymyositis, tendinitis, bursitis, and Sjogren's syndrome.

- 35 Immunological diseases include autoimmune diseases, immunological deficiency diseases or organ transplantation.

31

Bone diseases characterised by abnormal bone metabolism or resorption include osteoporosis (especially postmenopausal osteoporosis), hyper-calcemia, hyperparathyroidism, Paget's bone diseases, osteolysis, hypercalcemia of malignancy with or without bone metastases, rheumatoid arthritis, periodontitis, 5 osteoarthritis, ostealgia, osteopenia, cancer cachexia, calculosis, lithiasis (especially urolithiasis), solid carcinoma, gout and ankylosing spondylitis, tendinitis and bursitis.

Cardiovascular diseases include hypertension or myocardiac ischemia; atherosclerosis; functional or organic venous insufficiency; varicose therapy; 10 haemorrhoids; and shock states associated with a marked drop in arterial pressure (e.g. septic shock).

Neurodegenerative diseases include dementia, particularly degenerative dementia (including senile dementia, dementia with Lewy bodies, Alzheimer's disease, Pick's 15 disease, Huntingdon's chorea, Parkinson's disease and Creutzfeldt-Jakob disease, Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) and motor neuron disease); vascular dementia (including multi-infarct dementia); as well as dementia associated with intracranial space occupying lesions; trauma; infections and related conditions (including HIV infection, meningitis and shingles); metabolism; toxins; anoxia and vitamin deficiency; 20 and mild cognitive impairment associated with ageing, particularly Age Associated Memory Impairment.

The compounds of formula (I) may also be useful for neuroprotection and in the treatment of neurodegeneration following trauma such as stroke, cardiac arrest, 25 pulmonary bypass, traumatic brain injury, spinal cord injury or the like.

The compounds of the present invention may also be useful in the treatment of malignant cell growth and/or metastasis, and myoblastic leukaemia.

30 Complications of Type 1 diabetes include diabetic microangiopathy, diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, macular degeneration, glaucoma, nephrotic syndrome, aplastic anaemia, uveitis, Kawasaki disease and sarcoidosis.

Kidney dysfunction includes nephritis, glomerulonephritis, particularly mesangial 35 proliferative glomerulonephritis and nephritic syndrome.

It is to be understood that reference to treatment includes both treatment of

established symptoms and prophylactic treatment, unless explicitly stated otherwise.

According to a further aspect of the invention, we therefore provide a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof for use in human or
5 veterinary medicine.

According to another aspect of the invention, we provide a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof for use in the treatment of a condition which is mediated by P2X7 receptors.

10

According to a further aspect of the invention, we provide a method of treating a human or animal subject suffering from a condition which is mediated by P2X7 receptors which comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15

According to a further aspect of the invention we provide a method of treating a human or animal subject suffering from pain, inflammation or a neurodegenerative disease, which method comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

20

According to a yet further aspect of the invention we provide a method of treating a human or animal subject suffering from inflammatory pain, neuropathic pain or visceral pain which method comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

25

According to a further aspect of the invention we provide a method of treating a subject, for example a human subject, suffering from Alzheimer's disease which method comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

30

According to another aspect of the invention, we provide the use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof for the manufacture of a medicament for the treatment of a condition which is mediated by the action of P2X7 receptors.

35

According to another aspect of the invention we provide the use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof for the manufacture of a

medicament for the treatment or prevention of pain, inflammation or a neurodegenerative disease.

5 According to another aspect of the invention we provide the use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof for the manufacture of a medicament for the treatment or prevention of inflammatory pain, neuropathic pain or visceral pain.

10 In one aspect of the invention we provide the use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof for the manufacture of a medicament for the treatment or prevention of Alzheimer's disease.

15 In order to use a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof for the treatment of humans and other mammals it is normally formulated in accordance with standard pharmaceutical practice as a pharmaceutical composition. Therefore in another aspect of the invention there is provided a pharmaceutical composition comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, adapted for use in human or veterinary medicine.

20 In order to use the compounds of formula (I) in therapy, they will normally be formulated into a pharmaceutical composition in accordance with standard pharmaceutical practice. The present invention also provides a pharmaceutical composition, which comprises a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and optionally a pharmaceutically acceptable carrier.

25 A pharmaceutical composition of the invention, which may be prepared by admixture, suitably at ambient temperature and atmospheric pressure, is usually adapted for oral, parenteral or rectal administration and, as such, may be in the form of tablets, capsules, oral liquid preparations, powders, granules, lozenges, reconstitutable powders, injectable or infusable solutions or suspensions or suppositories. Orally administrable compositions are generally preferred.

30 Tablets and capsules for oral administration may be in unit dose form, and may contain conventional excipients, such as binding agents, fillers, tableting lubricants, disintegrants and acceptable wetting agents. The tablets may be coated according to methods well known in normal pharmaceutical practice.

21

Oral liquid preparations may be in the form of, for example, aqueous or oily suspension, solutions, emulsions, syrups or elixirs, or may be in the form of a dry product for reconstitution with water or other suitable vehicle before use. Such liquid preparations may contain conventional additives such as suspending agents, emulsifying agents, non-aqueous vehicles (which may include edible oils),
5 preservatives, and, if desired, conventional flavourings or colourants.

For parenteral administration, fluid unit dosage forms are prepared utilising a compound of the invention or pharmaceutically acceptable salt thereof and a sterile
10 vehicle. The compound, depending on the vehicle and concentration used, can be either suspended or dissolved in the vehicle. In preparing solutions, the compound can be dissolved for injection and filter sterilised before filling into a suitable vial or ampoule and sealing. Advantageously, adjuvants such as a local anaesthetic, preservatives and buffering agents are dissolved in the vehicle. To enhance the
15 stability, the composition can be frozen after filling into the vial and the water removed under vacuum. Parenteral suspensions are prepared in substantially the same manner, except that the compound is suspended in the vehicle instead of being dissolved, and sterilization cannot be accomplished by filtration. The compound can be sterilised by exposure to ethylene oxide before suspension in a
20 sterile vehicle. Advantageously, a surfactant or wetting agent is included in the composition to facilitate uniform distribution of the compound.

The composition may contain from 0.1% to 99% by weight, preferably from 10 to 60% by weight, of the active material, depending on the method of administration.

25 The dose of the compound used in the treatment of the aforementioned disorders will vary in the usual way with the seriousness of the disorders, the weight of the sufferer, and other similar factors. However, as a general guide suitable unit doses may be 0.05 to 1000 mg, more suitably 0.05 to 200 mg, for example 20 to 40 mg; and such
30 unit doses will preferably be administered once a day, although administration more than once a day may be required; and such therapy may extend for a number of weeks or months.

All publications, including but not limited to patents and patent applications, cited in this
35 specification are herein incorporated by reference as if each individual publication were specifically and individually indicated to be incorporated by reference herein as though fully set forth.

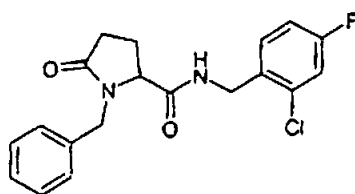
The following Descriptions and Examples illustrate the preparation of compounds of the invention but are not intended to be limiting.

5 **Examples:**

The general methods (a)-(d), along with the synthetic methods outlined in Schemes 1-9 above, for the preparation of compounds of the present invention are further illustrated by the following examples.

10

Example 1 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-(phenylmethyl)-prolinamide (E1)



15

5-Oxo-1-(phenylmethyl)-proline (0.176 g, 0.80 mmol, prepared as described below) was dissolved in dichloromethane (3 ml) and to this was added 1-hydroxybenzotriazole (0.119 g, 0.88 mmol), triethylamine (0.113 ml, 0.81 mmol), [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.134 g, 0.84 mmol) and N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.169 g, 0.88 mmol) under an atmosphere of argon. The mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was diluted with dichloromethane and washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The organic layer was filtered through a phase separator and then evaporated to give the crude product. The crude material was purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-(phenylmethyl)-prolinamide (0.112 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+$ = 361.2, retention time = 2.55 minutes.

30

The 5-oxo-1-(phenylmethyl)-proline used in the above procedure was prepared as follows:

(i) Dimethyl L-glutamate hydrochloride (0.500 g, 2.37 mmol) was dissolved in

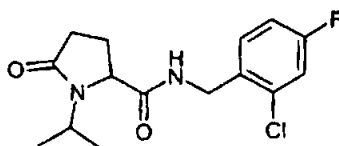
56

methanol (10 ml) and cooled to 0°C. The mixture was then treated with sodium hydroxide (0.099 g, 2.49 mmol) followed by acetic acid (0.136 ml, 2.37 mmol) and benzaldehyde (0.361 ml, 3.55 mmol). After stirring for 10 minutes at 0°C, sodium borohydride (0.088 g, 2.37 mmol) was added and the mixture was left to warm to room temperature and stirred overnight. The mixture was again cooled to 0°C and treated with a further quantity of sodium borohydride (0.044 g, 1.18 mmol). The mixture was again left to warm to room temperature and stirred overnight. Evaporation of the methanol gave a residue which was taken up in ethyl acetate and filtered. The filtrate was then washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate, filtered through a phase separator (with stirring) and evaporated to give a clear oil (0.56 g). The oil was dissolved in methanol and heated in a sealed tube in a microwave reactor at 120°C for 10 minutes and then for 15 minutes at 140°C (LC/MS indicated that this heating phase had not altered the composition of the mixture significantly). The solvent was evaporated and the residue purified by flash-silica column chromatography, eluting with a 15-20% gradient of ethyl acetate in hexane, to give pure methyl 5-oxo-1-(phenylmethyl)-prolinate (0.212 g) as a clear oil. LC/MS $[M+H]^+ = 234$, retention time = 2.15 minutes.

(ii) Methyl 5-oxo-1-(phenylmethyl)-prolinate (0.212 g, 0.91 mmol) was dissolved in water (3 ml) and methanol (0.5 ml) and treated with 2M aqueous sodium hydroxide (0.682 ml, 1.36 mmol). The mixture was stirred overnight at room temperature and then washed with dichloromethane. The aqueous layer was evaporated and the residue treated with an excess of 1M hydrogen chloride in ether (~5 ml). The mixture was evaporated once more and the residue was triturated with dichloromethane. The solid material was discarded and the combined dichloromethane fractions were evaporated to give 5-oxo-1-(phenylmethyl)-proline (0.182 g) as a yellow oil which was used without further purification.

LC/MS $[M+H]^+ = 220$, retention time = 1.72 minutes.

Example 2 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxo-prolinamide (**E2**)



1-(1-Methylethyl)-5-oxo-proline (0.060 g, 0.35 mmol, prepared as described below)

43

was dissolved in dichloromethane (3 ml) and dimethylformamide (1 ml) and to this was added 1-hydroxybenzotriazole (0.052 g, 0.39 mmol), [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.061 g, 0.39 mmol) and N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.074 g, 0.39 mmol) under an atmosphere of argon.

5 The mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was diluted with dichloromethane and washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The organic layer was filtered through a phase separator and then evaporated to give the crude product. The crude material was purified by mass-directed automated HPLC to give pure N-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxo-prolinamide (0.032 g) as a

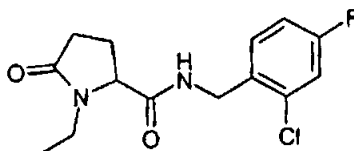
10 white solid. LC/MS $[M+H]^+$ = 313.1, retention time = 2.26 minutes.

The 1-(1-methylethyl)-5-oxo-proline used in the above procedure was prepared as follows:

- 15 (i) Dimethyl L-glutamate hydrochloride (0.500 g, 2.37 mmol) was dissolved in methanol (4 ml) and tetrahydrofuran (8 ml) and the mixture was then treated with crushed sodium hydroxide (0.099 g, 2.49 mmol) for 10 minutes. At this stage acetic acid (0.136 ml, 2.37 mmol) and acetone (0.261 ml, 3.55 mmol) were added together to the mixture as a solution in tetrahydrofuran (1 ml). After stirring for 10 minutes the
- 20 mixture was cooled to 0°C and treated with sodium borohydride pellets (0.088 g, 2.37 mmol). The mixture was then left to warm to room temperature and stirred overnight. Evaporation of the methanol gave a residue which was taken up in ethyl acetate and filtered. The filtrate was then washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate, filtered through a phase separator (with stirring) and evaporated to give a
- 25 clear oil (0.217 g). The oil was purified by flash-silica column chromatography to give pure dimethyl N-(1-methylethyl)-glutamate (0.200 g).
- (ii) Dimethyl N-(1-methylethyl)-glutamate (0.200 g) was dissolved in methanol and heated in a sealed tube in a microwave reactor at 140°C for 20 minutes. Thin-layer chromatography indicated that the starting material remained intact so the solvent
- 30 was evaporated and replaced with toluene. The mixture was heated at reflux temperature for ~3 hrs and then evaporated to give methyl 1-(1-methylethyl)-5-oxo-prolinate (0.152 g) as a light yellow oil which was used in the subsequent step without further purification.
- (iii) Methyl 1-(1-methylethyl)-5-oxo-prolinate (0.152 g, 0.82 mmol) was dissolved in
- 35 water (3 ml) and methanol (0.5 ml) and treated with 2M aqueous sodium hydroxide (0.682 ml, 1.36 mmol). The mixture was stirred for ~4 hrs at room temperature and then washed with dichloromethane. The aqueous layer was evaporated and the

residue treated with an excess of 1M hydrogen chloride in ether (~5 ml). The mixture was evaporated once more and the residue was triturated with dichloromethane. The solid material was discarded and the combined dichloromethane fractions were evaporated to give 1-(1-methylethyl)-5-oxo-proline (0.060 g) as a yellow oil which crystallized on standing.

Example 3 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide (**E3**)



- 10 Methyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate (0.135 g, 0.79 mmol, prepared as described below) was dissolved in methanol (4 ml) and treated with 2M aqueous sodium hydroxide (0.592 ml, 1.18 mmol). The mixture was stirred for ~4 hrs at room temperature and then evaporated to give a residue which was then treated with an excess of 1M hydrogen chloride in ether (~5 ml) for 10 minutes. The mixture was evaporated once
15 more and the residue was dissolved in dichloromethane (4 ml) and dimethylformamide (2 ml) and filtered to remove solids. The resulting solution was transferred to a reaction tube and 1-hydroxybenzotriazole (0.117 g, 0.87 mmol), [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.138 g, 0.87 mmol) and *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.167 g, 0.87 mmol) were
20 then added. The mixture was flushed with argon and then stirred at room temperature over the weekend. The mixture was then diluted with dichloromethane and washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The organic layer was filtered through a phase separator and then evaporated to give the crude product. The crude material was
25 purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide (0.086 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+ = 299.1$, retention time = 2.13 minutes.
Enantiomeric excess = 100.0%, as determined by chiral chromatography method B, indicative of *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-*L*-prolinamide
30 retention time = 8.05 minutes

The methyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate used in the above procedure was prepared as follows:

- (i) Dimethyl *L*-glutamate hydrochloride (0.500 g, 2.37 mmol) was dissolved in

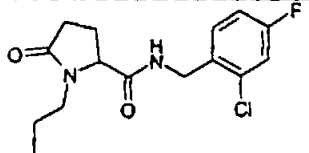
24

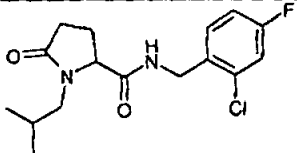
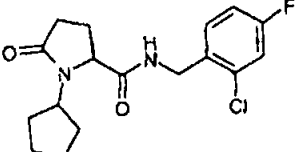
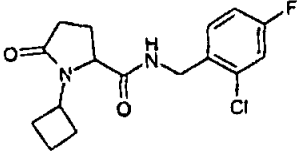
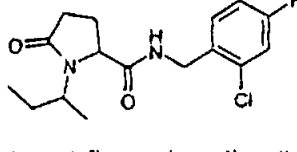
methanol (4 ml) and tetrahydrofuran (8 ml) and the mixture was then treated with crushed sodium hydroxide (0.099 g, 2.49 mmol) for 10 minutes. At this stage acetic acid (0.136 ml, 2.37 mmol) and acetaldehyde (0.199 ml, 3.55 mmol) were added together to the mixture as a solution in tetrahydrofuran (1 ml). After stirring for 10 minutes the mixture was cooled to 0°C and treated with sodium borohydride pellets (0.088 g, 2.37 mmol). The mixture was then left to warm to room temperature. Once the mixture had reached room temperature it was diluted with ethyl acetate (30 ml) and washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate, filtered through a phase separator (with stirring) and evaporated to give an oily residue. The oil was dissolved in toluene and heated at reflux for 4 hrs. To ensure complete reaction the mixture was then heated overnight at reflux. The solvent was then evaporated and the resulting residue was purified by flash-silica column chromatography, eluting with a gradient of 30-50% ethyl acetate in hexane, to give crude methyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate (0.135 g) as a clear oil which was used without further purification.

Examples 4-8

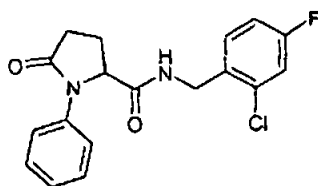
In a manner analogous to that described for Example 3 above the compounds tabulated below (Table 1) were prepared by substituting the appropriate aldehyde (or ketone) for the acetaldehyde used in the above procedure. All of the aldehydes and ketones used to make the compounds shown in Table 1 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature.

Table 1

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E4	 N-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-propyl-prolinamide	313.1	2.30

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E5	 <i>N</i> -[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(2-methylpropyl)-5-oxo-prolinamide	327.1	2.46
E6	 <i>N</i> -[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-cyclopentyl-5-oxo-prolinamide	339.1	2.47
E7	 <i>N</i> -[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-cyclobutyl-5-oxo-prolinamide	325	2.37
E8	 <i>N</i> -[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(1-methylpropyl)-5-oxo-prolinamide	327	2.43

Example 9 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-phenyl-prolinamide (**E9**)



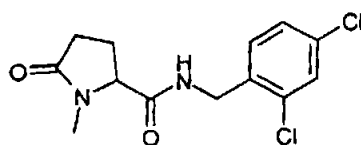
5

5-oxo-1-phenyl-proline (0.047 g, 0.23 mmol, prepared as described below) was dissolved in dichloromethane (~2 ml) and dimethylformamide (1 ml) and to this was added 1-hydroxybenzotriazole (0.034 g, 0.25 mmol), [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.040 g, 0.25 mmol), *N*-ethyl morpholine (0.032 ml, 0.25

mmol) and *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.048 g, 0.25 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 4.5 hrs. The mixture was diluted with more dichloromethane and washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The organic layer was filtered through a phase separator and then evaporated to give the crude product. The crude material was purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-phenyl-prolinamide (0.032 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+$ = 347.1, retention time = 2.51 minutes.

- 10 The 5-oxo-1-phenyl-proline used in the above procedure was prepared as follows:
- (i) Methyl 5-oxo-L-prolinate (0.204 ml, 1.75 mmol) was dissolved in toluene (5 ml) and treated with tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0) (0.024 g, 0.03 mmol), bromobenzene (0.184 ml, 1.75 mmol), cesium carbonate (0.795 g, 2.45 mmol) and Xantphos™ (0.040 g, 0.07 mmol). The resulting mixture was heated at 120°C for ~18 hrs and then allowed to cool to room temperature. The mixture was diluted with ethyl acetate and washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride, saturated aqueous sodium hydrogen carbonate, and brine. Filtration through a phase separator followed by evaporation gave a yellow/brown oil (~ 0.200 g). The crude material was purified by mass-directed automated HPLC to give pure methyl 5-oxo-1-phenylprolinate (0.054 g) as an oil which crystallised on standing. LC/MS $[M+H]^+$ = 220, retention time = 2.03 minutes.
- (ii) Methyl 5-oxo-1-phenylprolinate (0.054 g, 0.25 mmol) was combined with 2M aqueous sodium hydroxide (0.160 ml, 0.32 mmol) in methanol (1 ml) and stirred overnight at room temperature. The solvent was then evaporated and the residue taken up in ethyl acetate and washed with 2M aqueous hydrogen chloride. The aqueous layer was separated and washed twice more with ethyl acetate and then the combined ethyl acetate layers were dried using a phase separator and evaporated to give 5-oxo-1-phenyl-proline (0.047 g) as a clear oil.

30 Example 10 *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (**E10**)



1-Methyl-5-oxo-proline (0.057 g, 0.4 mmol, prepared as described below) was

92
dissolved in anhydrous dichloromethane (6 ml) and to this was added 1-hydroxybenzotriazole (0.060 g, 0.4 mmol), [(2,4-dichloro-phenyl)methyl]amine (0.055 ml, 0.4 mmol), diisopropylamine (0.140 ml, 0.8 mmol) and O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate (0.152 g, 0.4 mmol). The mixture was stirred at room temperature (20°C) under argon for 3 hrs and then overnight. The mixture was diluted with more dichloromethane (25 ml) and washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride (20 ml), saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (20 ml), 10% aqueous sodium carbonate (20 ml) and brine (20 ml). The organic layer was filtered through a hydrophobic frit and then evaporated to give the crude product. The crude material was dissolved in a mixture of dimethylsulphoxide (0.9 ml) and acetonitrile (0.9 ml) and then purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (0.085 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+ = 301$, retention time = 2.16 minutes.

15

The 1-methyl-5-oxo-proline used in the above procedure was prepared as follows:

(i) *N*-methyl-L-glutamic acid (0.500 g, 3.1 mmol) was dissolved in water (1 ml) and heated in a sealed tube at 140°C for 30 minutes in a microwave reactor. The water was then evaporated and the residue triturated with ether to give, after drying, 1-methyl-5-oxo-proline (0.298 g) as a white solid.

20

N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide can also be prepared as described below:

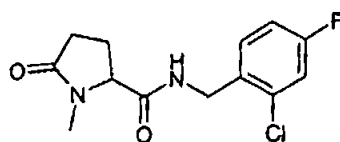
1-Methyl-5-oxo-proline (36.79g, 0.257moles, prepared as described above) was suspended in DCM (dichloromethane) (500ml). EEDQ (2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline, 66.7g, 0.27moles, 1.05eq) was added in one portion. All material seemed to dissolve to give an opaque mixture and the temperature dropped from 21°C to 10°C. This was stirred for 20 minutes under argon and then a solution of 2,4-dichlorobenzylamine (36ml, 0.27moles, 1.05eq) in DCM (100ml) was added dropwise over a period of 40 minutes. During addition, a white precipitate formed in the dropping funnel. The mixture bubbled gently and an ice/water bath was used to maintain the temperature between 15-20°C. Upon complete addition of amine, the dropping funnel was rinsed with further DCM (50ml) to rinse all the precipitate into the reaction mixture. The mixture was then allowed to warm to room temperature and stirred for approx. 18 hours. Saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (200ml) was added to the mixture and stirred for 5 minutes. The organic layer was then separated and washed with 2N HCl (3 x 250ml). During the acid washes,

35

V3

- crystals started to form in the organic layer, so this was diluted with further DCM (200ml). The organic layer was dried by passing through a hydrophobic frit and then concentrated under vacuum to give 65g of pink solids. The solids had formed large lumps so the crude material was ground up in a pestle and mortar. These were then
- 5 triturated with diethyl ether (400ml) and the solids filtered off and washed with further Et₂O (2 x 200ml). Drying then gave 52.96g of pale pink solids. This material was combined with 2 further batches, prepared in the same way, (141.42g total) and then suspended in ethanol (430ml) and water (715ml) and gradually warmed to 65°C (temperature of solution). The mixture gave an almost clear solution (deep pink),
- 10 except for a very fine solid suspension. After heating at 65°C for 20minutes, the flask was removed from the heat and allowed to warm to room temperature overnight. After this time, white needles had precipitated from solution. The mixture was cooled in an ice bath for 20 minutes to ensure all solids had precipitated. The white solids were then filtered off from the pink solution and washed with portions of 3:5
- 15 EtOH/H₂O (2 x 400ml), which had been cooled in an ice bath. The solids were dried in a vacuum oven (40°C) for a total of 5 days to give pure *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (125.37 g) as colourless crystals. LC/MS [M+H]⁺ = 301, retention time = 2.34 minutes.
- ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ 2.01 (m, 1H), 2.34 (m, 1H), 2.37 (m, 1H), 2.46 (m, 1H),
- 20 2.80 (s, 3H), 3.99 (dd, 1H, *J* = 9.1, 4.2 Hz), 4.49 (dd, 1H, *J* = 14.9, 5.9 Hz), 4.55 (dd, 1H, *J* = 14.8, 6.1 Hz), 6.56 (broad t, 1H, *J* = 5.7 Hz), 7.24 (dd, 1H, *J* = 8.2, 2.1 Hz), 7.33 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz), 7.40 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz); ¹³C NMR δ 175.9, 171.3, 134.5, 134.3, 133.7, 131.5, 129.6, 127.5, 63.8, 41.2, 29.4, 29.2, 23.4.
- 25 Enantiomeric excess = 99.5%, as determined by chiral chromatography method A, indicative of *N*-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1-methyl-5-oxo-L-prolinamide
- retention time = 9.89 minutes
- [α]_D = -2.1° (c=1, MeOH), Temperature = 29.3°C, wavelength = 589nm
- 30 melting point = 144.0-144.8°C

Example 11 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (E11)

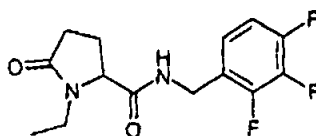


1-Methyl-5-oxo-proline (0.050 g, 0.35 mmol, prepared as described below) was dissolved in anhydrous dichloromethane (~7 ml) and to this was added 1-hydroxybenzotriazole (0.047 g, 0.42 mmol), [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.056 ml, 0.42 mmol), N-ethyl morpholine (0.166 ml, 1.04 mmol) and N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.067 g, 0.42 mmol). The mixture was stirred at room temperature overnight. A further aliquot of [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.100 ml, 0.8 mmol) was added to the mixture and stirring continued for a while longer but HPLC indicated that no further product was forming. The mixture was washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride (5 ml) and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (5 ml). The organic layer was collected and evaporated to give the crude product. The crude material was purified by mass-directed automated HPLC to give pure N-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (0.015 g) as a white solid. LC/MS [M+H]⁺ = 285, retention time = 2.04 minutes.

The 1-methyl-5-oxo-proline used in the above procedure was prepared as follows:

- (i) (L)-pyroglutamic acid methyl ester (1 g, 6.99 mmol) was dissolved/mixed with tetrahydrofuran (10 ml) and cooled to 0°C using an ice-bath. Sodium hydride (0.201 g of a 60% suspension in oil, 8.38 mmol) was added to the mixture. After bubbling stopped, methyl iodide (0.522 ml, 8.38 mmol) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature and then stirred for 1hr. The solvent was evaporated and water was added (1 ml). The aqueous layer was then extracted with dichloromethane. Evaporation of the dichloromethane gave crude methyl 1-methyl-5-oxo-prolinate (0.308 g) which was used in the next step without further purification.
- (ii) Methyl 1-methyl-5-oxo-prolinate (0.308 g, 1.96 mmol) was dissolved in methanol (~10 ml) and to this was added a solution of sodium hydroxide (0.157 g, 3.92 mmol) in water (~10 ml). The mixture was heated at reflux for 3 hrs, then cooled and evaporated to leave a minimal amount of water. This was acidified to pH 1 using 2M aqueous hydrogen chloride. The aqueous layer was washed with dichloromethane and then separated and evaporated to give 1-methyl-5-oxo-proline as a white solid (0.300 g).

Example 12 1-Ethyl-5-oxo-N-[(2,3,4-trifluorophenyl)methyl]-prolinamide (E12)



1-Ethyl-5-oxo-proline (0.050 g, 0.32 mmol) was dissolved in anhydrous dichloromethane (~7 ml) and dimethylformamide (1 ml) and to this was added 1-hydroxybenzotriazole (0.052 g, 0.38 mmol), [(2,3,4-trifluorophenyl)methyl]amine (0.103 g, 0.64 mmol), N-ethyl morpholine (0.151 ml, 0.95 mmol) and N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.073 g, 0.38 mmol). The mixture was shaken at room temperature over the weekend. A further aliquot of [(2,3,4-trifluorophenyl)methyl]amine (0.051 g, 0.32 mmol) was added to the mixture and stirring continued for a while longer until HPLC indicated that no further product was forming. The mixture was diluted with 2M aqueous hydrogen chloride (5 ml) and then filtered through a phase separator. The organic layer was then washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate and again filtered through a phase separator. The organic layer was then evaporated to give the crude product. The crude material was purified by mass-directed automated HPLC to give pure 1-ethyl-5-oxo-N-[(2,3,4-trifluorophenyl)methyl]-prolinamide (0.032 g). LC/MS [M+H]⁺ = 301, retention time = 2.03 minutes.

The 1-ethyl-5-oxo-proline used in the above procedure was prepared as follows (Method A):

(i) Dimethyl L-glutamate hydrochloride (5.0 g, 23.7 mmol) was dissolved in methanol (100 ml) and the mixture was then treated with ground sodium hydroxide (1.0 g, 24.9 mmol) under argon at room temperature. After 5 minutes, acetaldehyde (1.99 ml, 35.5 mmol) was added and stirring continued for 10 minutes. The mixture was cooled to 0°C and treated with sodium borohydride granules (0.701 g, 18.95 mmol). Stirring was continued for 1 hr at 0°C and then the methanol was evaporated off and the residue was taken up in ethyl acetate and filtered. The filtrate was then washed with brine and the brine washing was extracted with ethyl acetate. The combined ethyl acetate fractions were filtered through a hydrophobic frit and evaporated to give a clear oil (3.2 g). The oil was dissolved in toluene (30 ml) and heated at reflux overnight. The toluene was then evaporated to give a light orange residue which was purified by flash-silica column chromatography, eluting with a gradient of 20-60% ethyl acetate in hexane, to give partially pure methyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate (1.9 g) as a clear oil. This was used in the next step without further purification.

(ii) Methyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate (1.91 g, 11.17 mmol) was dissolved in methanol

(25 ml) and treated with 2M aqueous sodium hydroxide (7.3 ml, 14.52 mmol). The mixture was stirred for 4 hrs at room temperature and then washed with dichloromethane. The aqueous layer was evaporated and the residue treated with an excess of 1M hydrogen chloride in ether (~5 ml). The mixture was evaporated
5 once more and the residue was triturated with dichloromethane. The solid material was discarded and the combined dichloromethane fractions were evaporated to give a clear oil which crystallized on standing. Trituration with hexane and ether and drying gave pure 1-ethyl-5-oxo-proline (0.271 g) as a white solid.

10 Alternatively, 1-ethyl-5-oxo-proline may be prepared as follows (Method B):

(i) 1,1-dimethylethyl 5-oxo-L-prolinate (2.7 g, 12 mmol, prepared as described in *Synth.Comm.*, 2005, 35(8), 1129) was added to a suspension of sodium hydride (0.428 g (60% suspension in oil), 10.7 mmol) in tetrahydrofuran (6 ml) and the mixture was stirred at room temperature for 5 minutes. Ethyl iodide (1.67 g, 10.7
15 mmol) was then added and the mixture was heated at 40°C for 2 hrs. A further quantity of sodium hydride (0.24 g) was added and stirring continued overnight at room temperature. An additional quantity of ethyl iodide (0.86 ml) was added to the mixture at this stage and the mixture was left to stand at room temperature over the weekend. Water (~10 ml) was added to the mixture and this was stirred for 15
20 minutes. The tetrahydrofuran was evaporated and the remaining aqueous layer was extracted with dichloromethane (2 x 50 ml) and a 3:1 mixture of chloroform and isopropanol (50 ml). The combined organic layers were filtered through a hydrophobic frit and evaporated to give a yellow oil. Toluene was added to the mixture and then evaporated to a yellow oil once more. This material was purified by
25 automated silica flash-column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 15-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give pure 1,1-dimethylethyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate.

(ii) 1,1-Dimethylethyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate (0.965 g) was dissolved in dichloromethane (~5 ml) and treated with trifluoroacetic acid (1 ml). The mixture was
30 stirred at room temperature for 1.5 hrs and then evaporated. The resulting material was mostly starting material so a further amount of trifluoroacetic acid (1 ml) and dichloromethane (~5 ml) was added and the mixture stirred at room temperature for 36 hrs. The mixture was evaporated and then toluene was added to the residue and this was in turn also evaporated. After repeating this process once more, crude 1-
35 ethyl-5-oxo-proline was obtained as a dark yellow oil which was used without additional purification.

47

Alternatively, 1-ethyl-5-oxo-proline may be prepared as follows (Method C):

- (i) 1-(1,1-Dimethylethyl) 5-methyl-L-glutamate hydrochloride (5.0 g, 19.71 mmol) was dissolved in a mixture of methanol (30 ml) and tetrahydrofuran (60 ml) and the mixture was then treated with crushed, powdered sodium hydroxide (0.828 g, 20.69 mmol) under argon at room temperature. After stirring for 10 minutes, acetaldehyde (1.11 ml, 19.71 mmol) and acetic acid (1.13 ml, 19.71 mmol) were added and stirring continued for 10-15 minutes. The mixture was cooled to 0°C in an ice-bath and treated with sodium borohydride pellets (0.746 g, 19.71 mmol). Stirring was continued for ~1 hr at 0°C under argon. The mixture was allowed to warm to room temperature to give a thick suspension. Fine white solids were filtered off and then the methanol was evaporated off and the residue was taken up in dichloromethane (~50 ml) and washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~25 ml). The organic layer was separated using a phase separator and then the aqueous layer was back extracted with more dichloromethane (2 x 20 ml). The combined organic layers were evaporated to give a colourless oil (~4 g). The oil (3g, assume 14.8 mmol) was dissolved in toluene (30 ml) and heated at reflux for ~16 hrs overnight to give an orange solution. The toluene was then evaporated to give an orange oil (2.6 g). This was combined with a further batch of oil (0.850 g) which was obtained in the same manner and then purified by automated flash-silica column chromatography (Biotage SP4), eluting with a gradient of 20-80% ethyl acetate in hexane, to give pure 1,1-dimethylethyl 1-ethyl-5-oxoprolinate (2.14 g).
- (ii) 1,1-Dimethylethyl 1-ethyl-5-oxoprolinate (0.933 g) was dissolved in dichloromethane (~5 ml) and treated with trifluoroacetic acid (1 ml). The mixture was stirred for 3 hrs at room temperature and then evaporated. The residue was taken up in toluene and evaporated once more. This gave partially pure (>95%) 1-ethyl-5-oxo-proline as an orange/yellow oil (0.914 g) which was used without further purification.

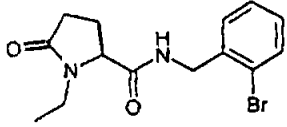
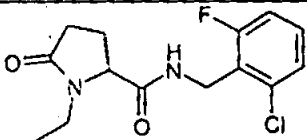
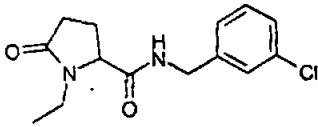
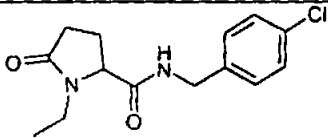
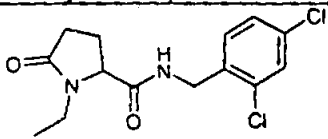
Examples 13-36

- In a manner analogous to that described for Example 12 above the compounds tabulated below (Table 2) were prepared by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the [(2,3,4-trifluorophenyl)methyl]amine used in the above procedure. All of the amines used to make the compounds shown in Table 2 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature or by methods analogous to those. The 1-ethyl-5-oxo-proline used in the reaction was prepared, in each case, by the method indicated. Where

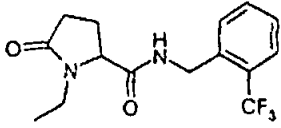
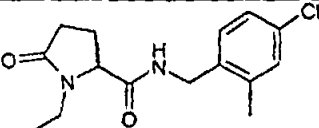
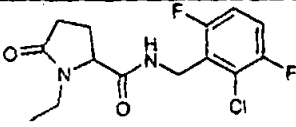
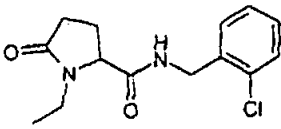
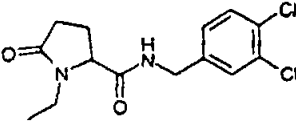
48

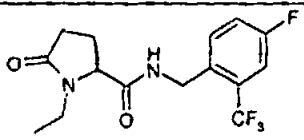
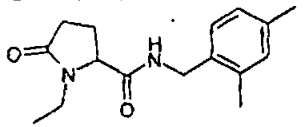
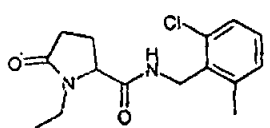
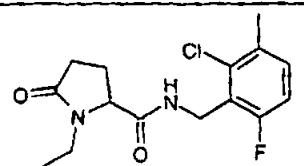
determined (by chiral HPLC), the enantiomeric excess (e.e.) of the isomer shown is also listed along with its stereospecific name, the chiral separation method used in parantheses and the corresponding retention time (r.t.) in that method.

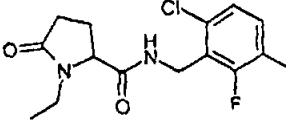
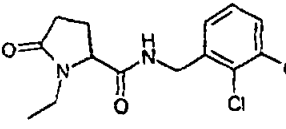
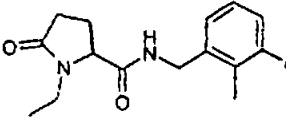
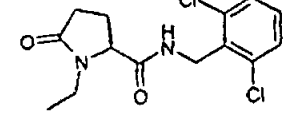
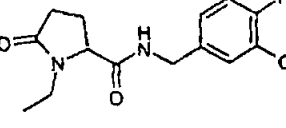
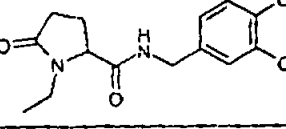
5 Table 2

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	Method used to prepare 1-ethyl-5-oxo-proline	e.e.
E13	 N-[(2-bromophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	327	2.04	A	
E14	 N-[(2-chloro-6-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	299	2.03	A	
E15	 N-[(3-chlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	281	2.13	A	
E16	 N-[(4-chlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	281	2.07	A	
E17	 N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	315	2.39	A	96.9% (C) N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-

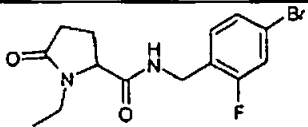
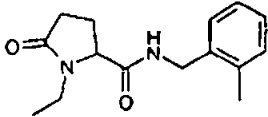
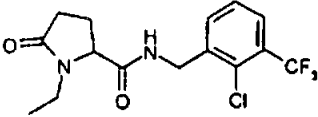
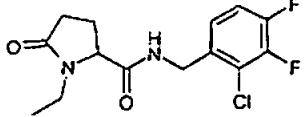
49

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	Method used to prepare 1-ethyl-5-oxo-proline	e.e.
					5-oxo-L-prolinamide r.t.=8.78mins
E18	 1-Ethyl-5-oxo-N-([2-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-5-oxo-prolinamide	315	2.29	B	
E19	 N-([4-chloro-2-methylphenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	295	2.37	B	
E20	 N-([2-chloro-3,6-difluorophenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	317	2.15	B	
E21	 N-([2-chlorophenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	281	2.10	B	
E22	 N-([3,4-dichlorophenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	315	2.36	B	82.8% (C) N-([3,4-dichlorophenyl]methyl)-1-ethyl-

Example no.	Chemical name	$[M+H]^+$	Retention time (mins)	Method used to prepare 1-ethyl-5-oxo-proline	e.e.
					5-oxo-L-prolinamide r.t.=5.37mins
E23	 1-Ethyl-N-([4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-5-oxo-prolinamide	333	2.33	B	
E24	 N-([2,4-dimethylphenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	275	2.24	B	
E25	 N-([2-chloro-6-methylphenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	295	2.28	B	79.0% (C) N-([2-chloro-6-methylphenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-L-prolinamide r.t.=6.91mins
E26	 N-([2-chloro-6-fluoro-3-methylphenyl]methyl)-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	313	2.31	B	

Example no.	Chemical name	$[M+H]^+$	Retention time (mins)	Method used to prepare 1-ethyl-5-oxo-proline	e.e.
E27	 <i>N</i> -[(6-chloro-2-fluoro-3-methylphenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-prolinamide	313	2.20	B	
E28	 <i>N</i> -[(2,3-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	315	2.29	C	
E29	 <i>N</i> -[(3-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	295	2.30	C	
E30	 <i>N</i> -[(2,6-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	315	2.19	C	
E31	 1-Ethyl- <i>N</i> -[(4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-5-oxoprolinamide	333	2.35	C	
E32	 1-Ethyl- <i>N</i> -[(4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-5-oxoprolinamide	349	2.49	C	99.1 (A)

52

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	Method used to prepare 1-ethyl-5-oxo-proline	e.e.
	<i>N</i> -{[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide				<i>N</i> -{[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-L-prolinamide r.t.=5.44mins
E33	 <i>N</i> -[(4-bromo-2-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	345	2.24	C	
E34	 1-Ethyl- <i>N</i> -[(2-methylphenyl)methyl]-5-oxoprolinamide	261	2.00	C	
E35	 <i>N</i> -[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	349	2.45	C	100.0 (A) <i>N</i> -[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-L-prolinamide r.t.=5.51mins
E36	 <i>N</i> -[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	317	2.22	C	

53

The [(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]amine hydrochloride required for the synthesis of *N*-[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide (Example 36) was prepared in the following manner :

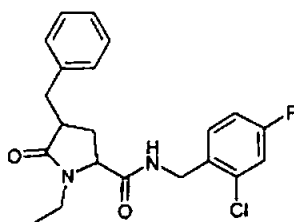
- 5 (i) A solution of *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (39.6 ml, 264 mmol) in tetrahydrofuran (170 ml) was cooled under argon to -70°C before the addition of *sec*-butyl lithium (205 ml, 288 mmol). To the mixture 3,4-difluorobenzoic acid (19 g, 120 mmol) was then added as a solution in tetrahydrofuran (80 ml) over a period of 40 minutes ensuring that the temperature of the mixture did not rise above -60°C. The
- 10 mixture was then stirred at a temperature of -68°C to -70°C for 1 hr before adding a solution of hexachloroethane (100 g, 422 mmol) in tetrahydrofuran (170 ml) over a period of 35 minutes whilst keeping the temperature of the mixture below -60°C. The mixture was stirred at a temperature of -65°C to -70°C for 2 hrs. The mixture was allowed to warm to -10°C and then water (500 ml) was added to quench the reaction.
- 15 The mixture was diluted with diethyl ether (250 ml) and the two resulting layers were separated. The aqueous layer was acidified to pH1 using concentrated aqueous hydrogen chloride and then extracted with 2 x 500 ml aliquots of diethyl ether. The combined organic extracts were passed through a hydrophobic frit and reduced *in vacuo* to give a yellow solid. This was recrystallised from ethyl acetate to give two
- 20 crops (8.35 g and 4.47 g) of pure 2-chloro-3,4-difluorobenzoic acid.
- (ii) 2-Chloro-3,4-difluorobenzoic acid (2 g, 10.4 mmol) was treated with thionyl chloride (3.04 ml) and the mixture was heated to 80°C for 90 minutes. The mixture was then cooled and reduced *in vacuo*. The residue was dissolved in anhydrous 1,4-dioxane (10 ml) and the mixture was then cooled in an ice-water bath. 0.88
- 25 Ammonia (aqueous, 25 ml) was added dropwise to the mixture which was subsequently allowed to warm to 22°C over a period of 2 hrs. This process was repeated using 10.8 g of 2-chloro-3,4-difluorobenzoic acid, 8.2 ml of thionyl chloride, and 45 ml of 0.88 ammonia and then both mixtures were combined and partitioned between ethyl acetate (150 ml) and water (100 ml). The aqueous layer was
- 30 separated and extracted with 2 x 150 ml aliquots of ethyl acetate. The combined organic extracts were then washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (100 ml), dried using a hydrophobic frit, and reduced *in vacuo* to give 2-chloro-3,4-difluorobenzamide (11.86 g) as a white solid.
- LC/MS $[M+H]^+ = 192/194$, retention time = 1.69 minutes.
- 35 (iii) 2-Chloro-3,4-difluorobenzamide (11.85 g, 62 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (200 ml) and treated with 1M borane tetrahydrofuran (247 ml, 247 mmol). The mixture was heated to 70°C and stirred for 18 hrs. The mixture was

54

then cooled in an ice-water bath and concentrated aqueous hydrogen chloride (150 ml) was added dropwise. Heating, with stirring, at 70°C was then resumed for a further 2 hrs. The mixture was then allowed to cool and the solvent was evaporated *in vacuo*. The residue was partitioned between ethyl acetate (200 ml) and 2N aqueous hydrogen chloride (200 ml). The aqueous layer was separated and the pH was adjusted to 8-9 by dropwise addition of 5N aqueous sodium hydroxide. The resulting cloudy suspension was extracted with ethyl acetate (4 x 200 ml) and the combined organic extracts were then passed through a hydrophobic frit and reduced in volume to ~200 ml. The mixture was then acidified by the addition of 1M ethereal hydrogen chloride (100 ml) resulting in formation of a precipitate. The solvent was evaporated *in vacuo* to give a white solid. The solid was recrystallised from methylated spirit (60 ml) to give three crops of pure [(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]amine hydrochloride (combined mass = 4.46 g) as a white solid.

15

Example 37 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-prolinamide (**E37**)



Crude 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline (0.052 g, 0.09 mmol, prepared as described below) was suspended in a mixture of dichloromethane (0.5 ml) and dimethylformamide (0.5 ml) and to this was added *N*-ethyl morpholine (0.034 ml, 0.27 mmol) causing most of the material to dissolve. 1-Hydroxybenzotriazole (0.016 g, 0.12 mmol) and *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.022 g, 0.12 mmol) were then added and the mixture was stirred for 10 minutes before adding [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.019 g, 0.12 mmol). The mixture was then left to stand at room temperature overnight. Saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~2 ml) was added to the mixture and stirred for 10 minutes. The organic layer was isolated by filtering through a phase separator and then washed with 2M aqueous hydrogen chloride. The organic layer was separated again and evaporated to give a yellow oil which was purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-prolinamide (0.004 g) as a colourless oil. LC/MS $[M+H]^+ = 389$,

SS

retention time = 2.90 minutes.

The 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline used in the above procedure was prepared as follows (Method A):

- 5 (i) Methyl (S)-(+)-2-pyrrolidinone-5-carboxylate (0.85 g, 5.94 mmol) was dissolved in dichloromethane (5 ml) and treated with triethylamine (0.869 ml, 6.24 mmol) and 4-dimethylaminopyridine (0.010 g). To this was added di-tertbutyl dicarbonate (1.36 g, 6.24 mmol) and the resulting orange solution was left to stir overnight. The mixture turned blue/grey and evaporation of the solvent gave a grayish oil (1.4 g). This was
- 10 purified by automated flash-silica column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-60% gradient of ethyl acetate in hexane, to give 1-(1,1-dimethylethyl) 2-methyl-5-oxo-1,2-pyrrolidinedicarboxylate (1.37 g) as colourless oil which crystallized on standing.
- (ii) 1-(1,1-Dimethylethyl) 2-methyl-5-oxo-1,2-pyrrolidinedicarboxylate (0.324 g, 1.33
- 15 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (3 ml) and the mixture was cooled to -78°C, using an acetone/cardice bath, under an atmosphere of argon. A 1M solution of lithium bis(trimethylsilyl)amide in tetrahydrofuran (1.4 ml, 1.40 mmol) was added dropwise and stirred under argon for 1 hour. To this was then added benzyl bromide (0.174 ml, 1.46 mmol) and the mixture was stirred at -78°C for a further 2.5 hrs. The
- 20 mixture was then allowed to warm to room temperature and quenched by the addition of saturated aqueous ammonium chloride (~5 ml) and then left to stand overnight at room temperature. The organic layer was separated and the aqueous layer was diluted with more water (5 ml) and extracted with ethyl acetate (3 x 10 ml). The combined organic layers were dried over anhydrous sodium sulphate and then
- 25 filtered and concentrated to give a yellow oil (0.700 g). This was purified by automated flash-silica column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-35% gradient of ethyl acetate in hexane, to give 1-(1,1-dimethylethyl) 2-methyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-1,2-pyrrolidinedicarboxylate as a white solid (0.418 g) after evaporation of solvent.
- 30 (iii) 1-(1,1-Dimethylethyl) 2-methyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-1,2-pyrrolidinedicarboxylate (0.415 g, 1.24 mmol) was dissolved in 4M hydrogen chloride in dioxane (2 ml) and stirred at room temperature for 2 hrs. The solvent was evaporated to give a colourless oil which crystallized on standing to give methyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline as a creamy/white solid. (0.205 g). This was used
- 35 without further purification in the next step.
- (iv) Methyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline (0.205 g, 0.88 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (2.5 ml) and treated with ethyl iodide (0.077 ml, 0.97 mmol). The

mixture was then cooled to 0°C and treated with sodium hydride (0.037 g of a 60% suspension in oil, 0.92 mmol). After stirring at 0°C for 10-15 minutes the solution was warmed to room temperature and stirred for a further 3.5 hrs. The mixture was then treated with saturated aqueous ammonium chloride solution (~2 ml) and subsequently diluted with dichloromethane (5 ml). The organic layer was separated by filtering through a hydrophobic frit (washing the aqueous with further aliquots of dichloromethane (2 x 5 ml)). Evaporation of the combined organic phases gave a brown oil (~ 0.100 g). This was purified by automated flash-silica column chromatography, eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give partially purified (~90% pure) methyl 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline (0.024 g) as a yellow oil which was used in the subsequent step without further purification.

(v) Methyl 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline (0.024 g, 0.09 mmol) was dissolved in methanol (0.5 ml) and cooled to 0°C in an ice-bath. 2M aqueous sodium hydroxide (0.137 ml, 0.27 mmol) was added to the mixture and stirring continued at 0°C for 3 hrs. The solvent was evaporated and the residue was acidified by treatment with 2M aqueous hydrogen chloride (~ 0.2 ml) to give a cloudy solution. Evaporation then gave crude 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline (0.052 g) as a mixture of white solids and yellow oily residues. This was used without further purification.

20

Alternatively 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline could also be prepared in the following manner (Method B):

- (i) (S)-(+)-L-5-trityloxymethyl-2-pyrrolidinone (1.88 g, 20 mmol) was dissolved in dimethylformamide (9 ml) at 0°C and treated with sodium hydride (60% suspension in oil, 0.220 g, 5.5 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 30 mins and then treated with ethyl iodide (0.444 ml, 5.5 mmol). The mixture was allowed to warm to room temperature and then stirred overnight. The mixture was then partitioned between ethyl acetate and saturated aqueous ammonium chloride and extracted with ethyl acetate (x3). The combined organic extracts were washed sequentially with water, 50% aqueous sodium chloride solution (x2), and saturated aqueous sodium chloride solution, and then dried over sodium sulphate. Concentration gave a beige solid which was purified by automated flash silica-gel column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give pure 1-ethyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (1.78 g).
- (ii) A 2M solution of lithium diisopropylamine in tetrahydrofuran (1.050 ml, 2.1 mmol) was added, at -78°C, to a solution of 1-ethyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (0.771 g, 2 mmol) in tetrahydrofuran (10 ml) and the resulting mixture

5 was stirred for 1 hr at -78°C. Benzyl bromide (0.262 ml, 2.2 mmol) was then added and after stirring for a further 1 hr at -78°C the mixture was allowed to warm to room temperature overnight. The mixture was quenched with saturated aqueous ammonium chloride and then extracted with ethyl acetate (x3). The combined
10 organic extracts were then washed with water and then with saturated aqueous sodium chloride solution (x2), dried over anhydrous magnesium sulphate, and concentrated to a crude oil (1.27 g). The crude solid was purified by automated flash silica-gel column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give the desired product (i.e. 1-ethyl-3-(phenylmethyl)-5-
15 (((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (0.561 g)) which was used in the next step, as well as unreacted starting material and the dialkylation product, 1-ethyl-3,3-bis(phenylmethyl)-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (0.053 g).

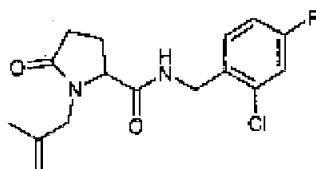
(iii) 1-Ethyl-3-(phenylmethyl)-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (0.561 g, 1.1 mmol) was stirred for 24 hrs at room temperature in a mixture of acetonitrile
20 (21 ml) and formic acid (3 ml). The reaction was not complete at this stage so the solvent was evaporated and replaced with formic acid (10 ml) and stirring was continued for 3 hrs. Reaction was still not complete so the mixture was concentrated in vacuo (azeotroping with methanol to remove all of the formic acid) and then dissolved in methanol (20 ml). Amberlyst 15® was then added to the mixture and
25 stirring was continued at room temperature overnight. The resin was filtered off, washing with more methanol, and the filtrate was concentrated to a gum (0.625 g). The gum was purified by automated flash silica-gel column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give 1-ethyl-5-(hydroxymethyl)-3-(phenylmethyl)-2-pyrrolidinone (0.170 g) which was used in the
30 next step.

(iv) 1-Ethyl-5-(hydroxymethyl)-3-(phenylmethyl)-2-pyrrolidinone (0.748 g, 3.21 mmol) was dissolved in acetonitrile (5 ml) and a 1M aqueous sodium phosphate monobasic buffer solution (3.69 ml, 3.69 mmol), a few crystals of TEMPO (2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy free radical), and sodium chlorite (0.580 g, 6.41 mmol) were added
35 and the mixture was warmed to 40°C. Approximately 1 drop of bleach (sodium hypochlorite solution, available chlorine >12%) was then added to the mixture and stirring continued at 40°C for 3 hrs. The mixture was then poured onto ice-water containing 1% w/w sodium sulphite and the resulting mixture was adjusted to pH2 using 5N aqueous hydrogen chloride and then extracted with ethyl acetate (x3). The
combined organic extracts were washed with saturated aqueous sodium chloride and then dried over magnesium sulphate and concentrated to give 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)proline (0.807 g) as a solid which was used without additional

56

purification.

Example 38 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(2-methyl-2-propen-1-yl)-5-oxoprolinamide (**E38**)



5

Crude 1-(2-methyl-2-propen-1-yl)-5-oxoproline (~0.075 g, ~0.41 mmol, prepared as described below) was dissolved in dichloromethane (5 ml) and to this was added 1-Hydroxybenzotriazole (0.061 g, 0.45 mmol), [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.068 g, 0.43 mmol), and *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.087 g, 0.45 mmol). The mixture was then stirred at room temperature for 24 hrs. The mixture was diluted with more dichloromethane then washed sequentially with 2M aqueous hydrogen chloride and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The organic layer was filtered through a phase separator and evaporated to give a brown residue which was purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(2-methyl-2-propen-1-yl)-5-oxoprolinamide (0.018 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+$ = 325.1, retention time = 2.40 minutes.

The 1-(2-methyl-2-propen-1-yl)-5-oxoproline used in the above procedure was prepared as follows:

(i) Methanol (55 ml) was cooled to -10°C (using a carboxice/carbon tetrachloride bath) with stirring and then thionyl chloride was added dropwise over 45 minutes. (D)-glutamic acid (10 g, 67.96 mmol) was then added in three portions over ~5 minutes and then the reaction was stirred for 3 hrs whilst warming to 21°C. The solvents were evaporated *in vacuo* to give a clear oil (15 g) which was dissolved in a mixture of water (150 ml) and dioxane (150 ml). To this sodium carbonate (46 g, 340 mmol) was then slowly added with stirring. Benzyl chloroformate (9.64 ml, 68 mmol) was then added and stirring continued overnight. The mixture was cautiously treated with 2N aqueous hydrogen chloride (250 ml) and then extracted with ethyl acetate (2 x 250 ml). The combined organic fractions were washed with brine and then dried and evaporated to give a clear oil (18.7 g). This was dissolved in dichloromethane (400 ml) and treated with concentrated sulphuric acid (1 ml). A large excess of isobutylene was then condensed into the mixture and then stirred overnight at 21°C.

30

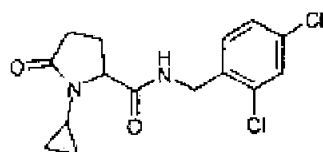
59

Saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~ 400 ml) was then added carefully to the mixture and then the organic phase was separated, washed with brine, dried and evaporated *in vacuo* to give a clear oil (21.9 g). This was purified by silica gel column chromatography, eluting with a 3:1 mixture of cyclohexane and ethyl acetate, to give pure 1-(1,1-dimethylethyl) 5-methyl *N*-[[[(phenylmethyl)oxy]carbonyl]glutamate (4.87 g).

(ii) To a solution of potassium hexamethyldisilazide (10 ml of a 0.6M solution in toluene, 6 mmol) in tetrahydrofuran (25 ml) at -70°C, was added dropwise a solution of 1-(1,1-dimethylethyl) 5-methyl *N*-[[[(phenylmethyl)oxy]carbonyl]glutamate (1.05 g, 3 mmol) in tetrahydrofuran (10 ml) over ~5 minutes. The mixture was stirred at -70°C for 1 hr and then treated with methallyl iodide (2.18 g, 12 mmol) in tetrahydrofuran (10 ml). Stirring was continued at at -78°C for 2 hrs and then warmed to 21°C. After stirring for a further 1 hr the mixture was poured into 1N aqueous hydrogen chloride and extracted with ethyl acetate (2 x 50 ml). The combined organics were washed with brine, dried, and evaporated *in vacuo*, to give a yellow oil (1.03 g). This was purified by silica column chromatography, eluting with a 4:1 mixture of cyclohexane and ethyl acetate, to give pure 1,1-dimethylethyl 1-(2-methyl-2-propen-1-yl)-5-oxoprolinate as a clear oil (0.322 g).

(iii) 1,1-dimethylethyl 1-(2-methyl-2-propen-1-yl)-5-oxoprolinate (0.099 g, 0.41 mmol) was dissolved in a mixture of dichloromethane (2 ml) and trifluoroacetic acid (2 ml) and stirred overnight at room temperature. The solvent was evaporated (azeotroping with toluene to remove traces of trifluoroacetic acid) to give crude 1-(2-methyl-2-propen-1-yl)-5-oxoproline as a brown oil which was used without further purification.

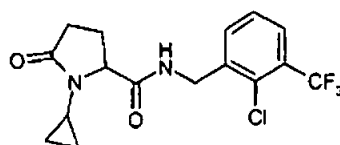
Example 39 1-Cyclopropyl-*N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-5-oxoprolinamide (E39)



To a solution of (2,4-dichlorophenyl)methyl isocyanide (0.047 g, 0.25 mmol) and 4-oxobutanoic acid (15% in water, 0.26 ml, 0.4 mmol) in methanol (1.75 ml) was added cyclopropylamine (0.042 ml, 0.6 mmol). The mixture was heated to 100°C for 30 minutes in a microwave reactor. The solvent was removed *in vacuo* and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give 1-Cyclopropyl-*N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-5-oxoprolinamide (0.072 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+$ = 326/328, retention time = 2.29 minutes.

60

Example 40 *N*-{[2-Chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-cyclopropyl-5-oxoprolinamide (**E40**)



5 To a solution of [2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl isocyanide (0.088 g, 0.4 mmol) and succinic semialdehyde (15% in water, 0.26 ml, 0.4 mmol) in methanol (1.75 ml) was added cyclopropylamine (0.042 ml, 0.6 mmol). The mixture was heated to 100°C for 30 minutes in a microwave reactor. The solvent was removed *in vacuo* and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give *N*-{[2-Chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-cyclopropyl-5-oxoprolinamide (0.076 g) as a white solid. LC/MS [M+H]⁺ = 361/363, retention time = 2.39 minutes.

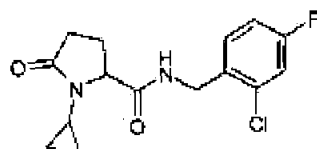
15 The [2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl isocyanide used in the above procedure was prepared as follows:

(i) A solution of {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine (1.05 g, 5 mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (10 ml) was added dropwise to a solution of *N*-formyl benzotriazole (0.772 g, 5.25 mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (10 ml). The reaction was stirred at 22°C for 18 hrs then reduced *in vacuo* and the residue partitioned between dichloromethane (75 ml) and 2N aqueous sodium hydroxide (40 ml). The organic layer was separated and extracted with 2N aqueous sodium hydroxide (40 ml). The organic layer was passed through a hydrophobic frit and reduced *in vacuo* to give a white solid. The crude product was purified by automated flash silica column chromatography (Biotage SP4), eluting with a solvent gradient of 0-10% ethyl acetate in dichloromethane, to give {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}formamide as a white solid.

(ii) A solution of {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}formamide (0.67 g, 2.82 mmol) in anhydrous dichloromethane (20 ml) was cooled under argon in an ice-water bath before the addition of diisopropylamine (1.78 ml, 12.7 mmol) followed by phosphorus oxychloride (0.393 ml, 4.23 mmol). The reaction was stirred at between 2-5°C for 2 hrs. The mixture was then reduced *in vacuo* and the residue treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (20 ml) and extracted with dichloromethane (20 ml). The organic layer was passed through a hydrophobic frit and the reduced *in vacuo* to give a yellow solid. Further drying *in vacuo* gave [2-

chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl isocyanide as an orange gum (0.66 g) which was used without further purification.

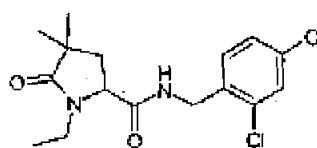
Example 41 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-cyclopropyl-5-oxoprolinamide (E41)



To a solution of [2-chloro-4-fluoro-phenyl)methyl isocyanide (0.068 g, 0.4 mmol) and succinic semialdehyde (15% in water, 0.26 ml, 0.4 mmol) in methanol (1.75 ml) was added cyclopropylamine (0.042 ml, 0.6 mmol). The mixture was heated to 100°C for 30 minutes in a microwave reactor. The solvent was removed *in vacuo* and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give a colourless gum which was triturated with diethyl ether to give *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-cyclopropyl-5-oxoprolinamide as a pale cream solid (0.058 g). LC/MS [M+H]⁺ = 310, retention time = 2.16 minutes.

The [2-chloro-4-fluoro-phenyl)methyl isocyanide used as the starting material was prepared in an analogous manner to that described for the preparation of [2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl isocyanide in example 40 but using 2-chloro-4-fluorophenyl)methyl)amine in the place of 2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl)amine.

Example 42 *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolinamide (E42)

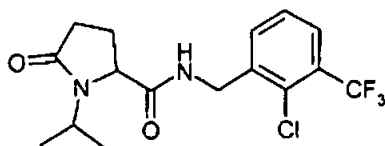


(2,4-Dichlorophenyl)methyl isocyanide (0.075 g, 0.4 mmol) and crude 2,2-dimethyl-4-oxobutanoic acid (0.115 g, 0.6 mmol) were dissolved in methanol (2 ml). Ethylamine solution (2M in water, 0.3 ml, 0.6 mmol) was added and the mixture was heated in a sealed vessel at 100°C for 30 minutes in a microwave reactor. The mixture was left to stand over the weekend and then the solvent was removed *in vacuo* and the resulting orange oil was purified by mass-directed automated HPLC to give a clear

oily gum which was triturated with diethyl ether to give *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolineamide as a white solid (0.024 g). LC/MS $[M+H]^+ = 343$, retention time = 2.57 minutes.

- 5 The 2,2-dimethyl-4-oxobutanoic acid used as the starting material in the above procedure was prepared as follows:
- (i) 2,2-dimethyl-4-pentenoic acid was dissolved in dichloromethane (25 ml) and cooled to -78°C in a CO_2 /acetone bath and oxygen was bubbled through the mixture for 5 minutes. The ozone generator was switched on and ozone was bubbled
- 10 through the mixture for 15 minutes. The flow of ozone was then stopped and the mixture was flushed with oxygen for 5 minutes and then with argon for 2 minutes. TLC indicated that the reaction had not progressed significantly so ozone was bubbled through the mixture for a further 15 minutes after which time a pale blue colour persisted and a suspension had formed. The ozone flow was switched off and
- 15 the mixture was flushed with oxygen for 5 minutes and then with argon for 10 minutes (until the exhaust gas gave a negative response to wetted starch/iodine paper). Dimethyl sulphide (1.72 ml, 23.41 mmol) was then added to the mixture and the mixture was allowed to warm to room temperature. After stirring at room temperature for 2 hrs the mixture was concentrated to give a colourless oil (1.5 g).
- 20 1.4 g of this material was purified by flash silica column chromatography, eluting with a gradient of 0-50% ethyl acetate in dichloromethane, to give 2,2-dimethyl-4-oxobutanoic acid as a colourless oil (0.649 g).

Example 43 *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-(1-methylethyl)-5-oxoprolineamide (E43)



- 1-(1-Methylethyl)-5-oxoproline (0.100 g, 0.58 mmol) was dissolved in dichloromethane (20 ml) and to this was added *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.111 g, 0.58 mmol), 1-Hydroxybenzotriazole (0.078 g, 0.58 mmol), and *N*-ethyl morpholine (0.223 ml, 1.75 mmol). Finally {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine was added to the mixture and stirring continued for ~48 hrs. The mixture was then treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (20 ml) and stirred vigorously. The aqueous layer was removed using a



phase separator and then the solvent was removed from the organic layer using an argon blow-down unit. The resulting residue was treated with a mixture of water and ethylacetate (25 ml, 1:1) and the aqueous layer was subsequently discarded. The organic layer was filtered through a phase separator and evaporated to give an oil.

- 5 This was triturated with diethyl ether to give a solid and this was subsequently purified by mass-directed automated HPLC to give *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-(1-methylethyl)-5-oxoprolinamide (0.097 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+ = 363$, retention time = 2.48 minutes.

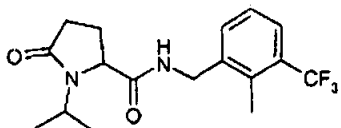
- 10 The 1-(1-Methylethyl)-5-oxoproline used in the above procedure was prepared in an analogous manner to that described previously for the synthesis of methyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate (see example 3) but using acetone in the place of acetaldehyde and with the addition of a subsequent ester deprotection step (using standard conditions, i.e. sodium hydroxide in methanol) being carried out (as opposed to the combined
- 15 deprotection and amide coupling described in example 3).

Examples 44-49

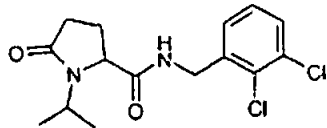
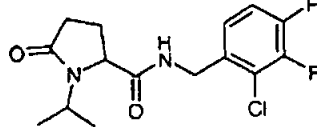
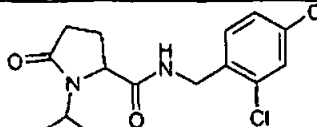
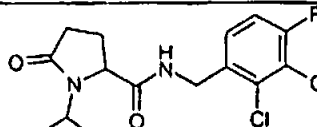
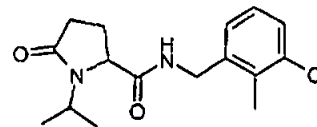
- In a manner analogous to that described for Example 43 above the compounds
- 20 tabulated below (Table 3) were prepared by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine used in the above procedure. All of the amines used to make the compounds shown in Table 3 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature unless stated otherwise.

25

Table 3

Example no.	Chemical name	$[M+H]^+$	Retention time (mins)
E44	 1-(1-methylethyl)- <i>N</i> -{[2-methyl-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxoprolinamide	343	2.48

64

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E45	 <i>N</i> -[(2,3-dichlorophenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxoprolineamide	329	2.35
E46	 <i>N</i> -[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxoprolineamide	331	2.26
E47	 <i>N</i> -[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxoprolineamide	329	2.4
E48	 <i>N</i> -[(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxo-L-prolineamide	346.9	2.41
E49	 <i>N</i> -[(3-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxoprolineamide	309	2.34

The [(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]amine hydrochloride required for the synthesis of *N*-[(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-(1-methylethyl)-5-oxo-L-prolineamide (example 48) was prepared in the following manner:

- 5 (i) Sodium nitrite (0.172 g, 2.5 mmol) was added to a stirred solution of 2-chloro-6-fluoro-3-methyl-phenylamine (0.400 g, 2.5 mmol) in water (20 ml) and 37% aqueous hydrogen chloride (5 ml) at -5°C. The mixture was stirred at -5°C for 5 minutes and then added in one pot to a solution of copper (I) chloride (0.742 g, 7.5 mmol) in 37%

69

aqueous hydrogen chloride (5 ml) whilst maintaining the temperature at -5 to 0°C. The reaction mixture was heated to 38°C and stirred for 1 hr then the mixture was cooled and diethyl ether (20 ml) was added. The organic phase was separated and washed with 1N aqueous hydrogen chloride and then with water. The organic layer was then dried over sodium sulphate and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash silica column chromatography, eluting with petroleum ether, to give 2,3-dichloro-1-fluoro-4-methylbenzene (0.090 g, 0.5 mmol) as a white solid.

(ii) 2,3-dichloro-1-fluoro-4-methylbenzene (0.090 g, 0.5 mmol) was added to a stirred mixture of potassium dichromate (0.284 g, 1 mmol) in acetic acid (1 ml). 97% Sulphuric acid (0.5 ml) was then added slowly to the mixture which was subsequently heated at 100°C for 2 hrs. After cooling to room temperature, water and ice were added and the green solid thus obtained was filtered off and washed with cold water to afford 2,3-dichloro-4-fluorobenzoic acid (0.056 g, 0.27 mmol) as a white solid.

(iii) A solution of 2,3-dichloro-4-fluorobenzoic acid (0.200 g, 0.92 mmol) in dichloromethane (~4 ml) was treated with 1-hydroxybenzotriazole (0.162 g, 1.2 mmol), N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.230 g, 1.2 mmol), and triethylamine (0.56 ml, 4.0 mmol) under argon at room temperature. The mixture was stirred at room temperature for 40 minutes then treated with) 32% aqueous ammonium hydroxide (0.088 ml) and stirred overnight at room temperature.

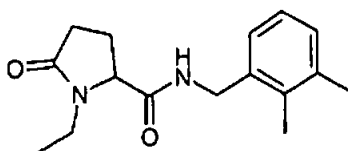
The mixture was diluted with dichloromethane and washed sequentially with water and then with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The organic layer was separated and dried over sodium sulphate then concentrated to give 2,3-dichloro-4-fluorobenzamide (0.156 g) as a white solid that was used without further purification.

(iv) A solution of 2,3-dichloro-4-fluorobenzamide (0.750 g, 3.62 mmol) in dry tetrahydrofuran (2 ml) was heated to 90°C under nitrogen. A 10M solution of boron hydride dimethyl sulphide complex in tetrahydrofuran (1.05 ml, 5.43 mmol) was added to the hot solution and stirring was continued for 4 hrs. The mixture was then treated with 6N aqueous hydrogen chloride and heating continued for 30 minutes.

The solvents were evaporated and the crude residue was purified by SCX cartridge and subsequent flash silica column chromatography eluting with 5% methanol in dichloromethane. The amine obtained was treated with ethereal hydrogen chloride to give [(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]amine hydrogen chloride (0.360 g) as a white solid.

Example 50 N-[(2,3-dimethylphenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide (E50)

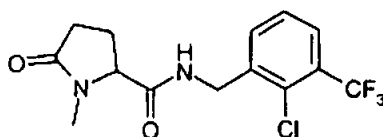
66



1-ethyl-5-oxoproline (0.080 g, 0.51 mmol, prepared in an analogous manner to that described for example 12, method A) was dissolved in dichloromethane (5 ml) and to this was added N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.117 g, 0.61 mmol), N-ethyl morpholine (0.195 ml, 1.53 mmol), and 2,3-dimethyl benzylamine (0.082 g, 0.61 mmol). The mixture was stirred for ~17 hrs and then left to stand over the weekend. The mixture was then treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~3 ml) and stirred vigorously for ~10 minutes. The organic layer was separated using a hydrophobic frit and the aqueous layer was extracted with more dichloromethane (~2 ml). The combined organic layers were concentrated to give a yellow oil (~0.2 g). This was purified further by mass-directed automated HPLC to give pure N-[(2,3-dimethylphenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide (0.072 g) as white solid. LC/MS [M+H]⁺ = 275, retention time = 2.12 minutes.

Example 51

N-[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide (E51)



20

1-methyl-5-oxoproline (2.27 g, 15.88 mmol, prepared as described below) was dissolved in dichloromethane (150 ml) and to this was added N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (3.35 g, 17.47 mmol), and 1-hydroxybenzotriazole (2.36 g, 17.47 mmol). The mixture was stirred for ~10 minutes and then triethylamine (2.21 ml, 15.88 mmol) and {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine (3.66 ml, 17.47 mmol) were added and the mixture was left stirring at room temperature overnight (~17 hrs). A white precipitate formed during this time. The mixture was then treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~100 ml) and stirred for 10 minutes. The organic layer was separated using a hydrophobic frit and then 2N aqueous hydrogen chloride was added and mixed and separated again. The organic layer was concentrated to give white solids (~2.5 g). The solid was dissolved in ethyl acetate (~200 ml) and washed

30

with water (4 x 50 ml) followed by brine (50 ml). The organic layer was then dried by passing through a phase separator and concentrated to give pure *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxo-L-prolinamide as a fine white solid (2.48 g).

5 LC/MS [M+H]⁺ = 335, retention time = 2.24 minutes.

¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ 2.02 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 2.39 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 2.81 (s, 3H), 4.00 (dd, 1H, J = 8.9, 4.2 Hz), 4.60 (dd, 1H, J = 15.1, 6.2 Hz), 4.65 (dd, 1H, J = 15.1, 6.2 Hz), 6.56 (broad t, 1H, J = 5.8 Hz), 7.38 (t, 1H, J = 7.7 Hz), 7.60 (dd, 1H, J = 7.6, 1.0 Hz), 7.68 (dd, 1H, J = 7.9, 1.2 Hz); ¹³C NMR δ 176.0, 171.5,

10 137.5, 133.9, 131.7, 129.3, 127.4, 127.0, 122.8, 63.8, 41.8, 29.4, 29.2, 23.4.

The 1-methyl-5-oxoproline used as the starting material was prepared in the following manner:

(i) *N*-methyl-L-glutamic acid (9.81 g, 60.87 mmol) was split into two equal batches and each was suspended in water (15 ml) and heated in a sealed tube at 140°C for 30 minutes in a microwave reactor to give a clear solution. The two batches were then combined and the water was evaporated and dried under vacuum to give a white solid. The solid was triturated with ether then filtered and washed with more ether to give, after drying, 1-methyl-5-oxo-proline (7.47 g) as a white solid.

20

N-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide may also be prepared as described below:

1-Methyl-5-oxoproline (49.0 g, 0.342 mol, prepared as described above) was suspended in DCM (600ml) (internal temperature drops from 20°C to 13.7°C). EEDQ (2-ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline, 75.26 g, 0.359 mol, 1.05eq) was added in one portion and the mixture was stirred at room temperature for 15 minutes. A solution of 1-[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methanamine (88.77 g, 0.359 mol, 1.05eq) in DCM (250ml) was then added dropwise to the mixture over 20 minutes (slight exotherm to 19°C) and any remaining solids were then washed into the mixture using additional DCM (150 ml). The mixture was then stirred at room temperature overnight.

30

Saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (300 ml) was added and the mixture was stirred for 5 minutes at room temperature. The organic layer was separated, and washed sequentially with water (300 ml), 2N aqueous hydrogen chloride (3 x 300 ml), water (300 ml) and saturated aqueous sodium chloride solution (300 ml). The organic solution was dried over anhydrous sodium sulphate, filtered and evaporated *in vacuo*. The resulting solid was then triturated with ether (~500 ml) and the solid

35

was collected, washed with ether and dried (30°C, vac oven over the weekend) to give a colourless solid (91.1 g, 80%). This material was combined with a similar batch, prepared in an analagous manner, and the combined material (total of 178 g) was dissolved in ethyl acetate (2.75 l) with heating (gentle reflux, overhead stirring).

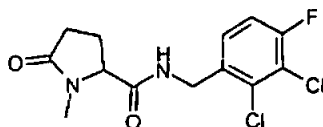
- 5 The resulting hot clear solution was gently stirred and cooled to room temperature overnight. The solid was collected, washed with cold ethyl acetate (500 ml) and dried (50°C in vacuum oven, ~3 days) to give *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide, as colourless needles (148.4 g).
- 10 LC/MS $[M+H]^+$ = 335/337, retention time = 2.26 minutes.
- ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ 1.86 (m, 1H), 2.21 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 4.12 (dd, 1H, J = 8.3, 3.5 Hz), 4.47 (d, 2H, J = 5.8 Hz), , 7.58 (t, 1H, J = 7.8 Hz), 7.65 (dd, 1H, J = 7.8, 1.0 Hz), 7.80 (dd, 1H, J = 7.8, 1.2 Hz), 8.81 (broad t, 1H, J = 5.7 Hz); ^{13}C NMR δ 174.4, 171.4, 138.8, 133.1, 129.8, 127.5, 127.1, 126.6,
- 15 122.9, 61.6, 40.2, 29.1, 28.0, 22.5.

Enantiomeric excess = 99.1%, as determined by chiral chromatography method A, indicative of *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxo-L-prolinamide

- 20 retention time = 6.99 minutes

$[\alpha]_D = -0.8^\circ$ ($c=1$, MeOH), Temperature = 29.3°C, wavelength = 589nm
melting point = 173°C

Example 52 *N*-{[(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide
25 (E52)}



- 1-methyl-5-oxoproline (0.060 g, 0.42 mmol, prepared as described above for example 51) was dissolved in dichloromethane (5 ml) and to this was added *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.096 g, 0.5 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (0.068 g, 0.5 mmol), and *N*-ethyl morpholine (0.160 ml, 1.26 mmol). The mixture was stirred for ~10 minutes and then [(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]amine hydrochloride (0.081 g, 0.42 mmol, prepared as described previously for example 48) was added and the mixture was left to stir overnight (~17 hrs) and then over the weekend. The mixture was then treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~3 ml) and stirred vigorously for 10 minutes.
- 30
- 35

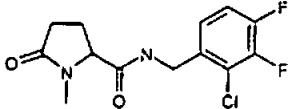
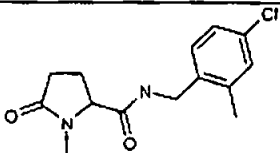
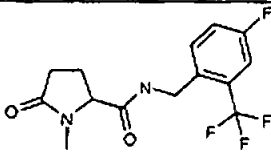
The organic layer was separated using a hydrophobic frit, washing the aqueous with additional dichloromethane (~2 ml). The combined organic fractions were concentrated to give a cream coloured solid. The solid was partitioned between ethyl acetate (~20 ml) and water (~10 ml) and the organic layer was then separated by passing through a phase separator and concentrated to give pure -[(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide as an off-white solid.

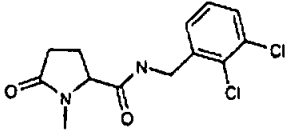
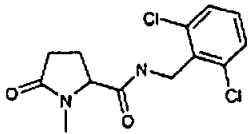
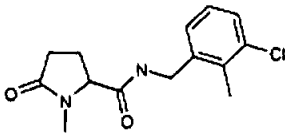
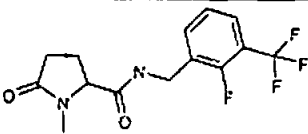
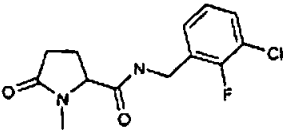
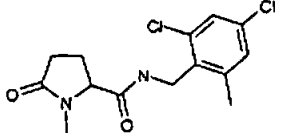
LC/MS $[M+H]^+ = 319$, retention time = 2.2 minutes.

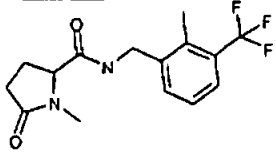
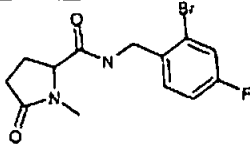
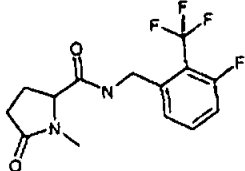
Examples 53-64

In a manner analogous to that described for Example 52 above the compounds tabulated below (Table 4) were prepared by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the [(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]amine hydrochloride used in the above procedure. All of the amines used to make the compounds shown in Table 4 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature or using analogous methods.

Table 4

Example no.	Chemical name	$[M+H]^+$	Retention time (mins)
E53	 <i>N</i> -[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	303	2.04
E54	 <i>N</i> -[(4-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	281	2.29
E55	 <i>N</i> -[(4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	319	2.29

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
	(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide		
E56	 <i>N</i> -[(2,3-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	301	2.28
E57	 <i>N</i> -[(2,6-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	301	2.15
E58	 <i>N</i> -[(3-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	281	2.27
E59	 <i>N</i> -[[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	319	2.32
E60	 <i>N</i> -[(3-chloro-2-fluorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	285	2.14
E61	 <i>N</i> -[(2,4-dichloro-6-methylphenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	315	2.3

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
	oxoprolinamide		
E62	 1-methyl-N-([2-methyl-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-5-oxoprolinamide	315.1	2.26
E63	 N-([2-bromo-4-fluorophenyl]methyl)-1-methyl-5-oxoprolinamide	330.9	2.0
E64	 N-([3-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-1-methyl-5-oxoprolinamide	319	2.1

The amines required for the synthesis of example 62-64 were prepared according to the procedures described, respectively, below:

- 1) ([2-Methyl-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)amine hydrochloride (Amine used to prepare Example 62)

Borane tetrahydrofuran (1M, 39.4 ml, 39.4 mmol) was added to a solution of 2-methyl-3-trifluoromethyl benzamide (2 g, 9.85 mmol) in tetrahydrofuran (75 ml) and stirred at 70°C for 5 hrs. LCMS showed incomplete reaction so heating at 70°C under argon was continued overnight and then for a further 5 hrs following this. The reaction mixture was treated with 2N aqueous hydrogen chloride and stirred at 100°C for 4 hrs and then left to cool over the weekend. The mixture was reduced to dryness undervacuum and then partitioned between dichloromethane and 2N aqueous sodium hydroxide. The organic layer was separated using a hydrophobic frit and reduced to give a residue which was purified by flash silica column

chromatography (eluting with 0-5% 2N ammonia/methanol in dichloromethane). The solvent was evaporated and the residue taken up in diethyl ether and treated with 1M ethereal hydrogen chloride. The solid that precipitated was collected by filtration and this was then triturated with dichloromethane and after filtration 2-Methyl-3-(trifluoromethyl)phenyl)methylamine hydrochloride (1.4 g) was obtained as a white solid.

LC/MS $[M+H]^+ = 173$, retention time = 1.30 minutes.

2) [(2-bromo-4-fluorophenyl)methyl]amine hydrochloride (Amine used to prepare Example 63)

(i) 2-Bromo-4-fluorobenzyl bromide (5g 18.8 mmol) and potassium phthalimide (4g, 21.6 mmol) were combined in dimethylformamide (200 ml) and stirred at 80°C for 18 hrs overnight. The mixture was reduced under vacuum and the residue was partitioned between diethyl ether and water. Solids were filtered off and the aqueous layer was washed with more ether (2 x 50 ml). The ether layers were combined and dried over sodium sulphate then filtered and evaporated to give an off-white solid (3.36 g). The solid was triturated with methanol and filtration gave 2-[(2-bromo-4-fluorophenyl)methyl]-1*H*-isoindole-1,3(2*H*)-dione as a solid (2.06 g) which was used without further purification in the next step.

LC/MS $[M+H]^+ = 334$, retention time = 3.30 minutes.

(ii) Hydrazine hydrate (0.655 ml, 21 mmol) was added to a suspension of 2-[(2-bromo-4-fluorophenyl)methyl]-1*H*-isoindole-1,3(2*H*)-dione (2 g, 6 mmol) in ethanol (60 ml) and stirred at room temperature overnight. The reaction had not gone to completion at this stage so the mixture was heated at 100°C for a total of 2 hrs (the mixture turned white and cloudy during this time). The mixture was filtered to remove solids then cooled and filtered again. The solids were washed with cold ethanol and then the combined ethanol fractions were evaporated to dryness under vacuum. The resulting residue was partitioned between 2N aqueous hydrogen chloride and dichloromethane. The organic phase was separated using a hydrophobic frit. The aqueous layer was washed with more dichloromethane and separated again. The aqueous layer was then reduced under vacuum to leave a pale yellow solid (0.876 g). The solid was taken up in saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution and extracted with dichloromethane. Separation by hydrophobic frit and evaporation gave a residue which was dissolved in diethyl ether and treated with ethereal hydrogen chloride. A pale yellow solid precipitated from the mixture. Evaporation and drying gave [(2-bromo-4-fluorophenyl)methyl]amine hydrochloride

(0.789 g).

LC/MS $[M+H]^+$ = 203, retention time = 1.08 minutes.

- 3) {[3-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine hydrochloride (Amine used to
5 prepare Example 64)

Borane tetrahydrofuran (1M, 19.2 ml, 19.2 mmol) was added dropwise to a solution
of 3-fluoro-2-(trifluoromethyl)benzamide (1 g, 4.8 mmol) in tetrahydrofuran (40 ml)
under argon at room temperature. The mixture was heated at 70°C and then a
10 further aliquot of borane tetrahydrofuran (10 ml, 10 mmol) was added and heating at
70°C was continued over the weekend. The reaction mixture was cooled to room
temperature and then treated with 2M aqueous hydrogen chloride (15 ml) and stirred
at room temperature for 15 minutes. Aqueous sodium hydroxide solution was added
15 until the pH of the mixture was between 8-9 and then the mixture was extracted with
ethyl acetate (3 x 30 ml). The combined organic layers were filtered through a
hydrophobic frit and then evaporated under vacuum. The residue was redissolved in
dichloromethane, filtered through a hydrophobic frit and evaporated to give a yellow
oil. The oil was dissolved in 2M aqueous hydrogen chloride. A white precipitate
formed and this was collected by vacuum filtration and then loaded equally onto 4 x
20 10 g SCX columns. The columns were flushed with methanol and water and then
aqueous ammonia was used to wash off the product. These latter fractions were
reduced under vacuum to give a yellow oil (0.4 g). The oil was dissolved in diethyl
ether and treated with 1M ethereal hydrogen chloride until no more precipitate
formed. The mixture was reduced under vacuum to give {[3-fluoro-2-
25 (trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine hydrochloride as a white solid.
LC/MS $[M+H]^+$ = 193, retention time = 1.15 minutes.

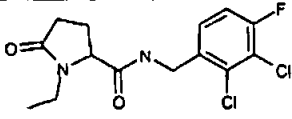
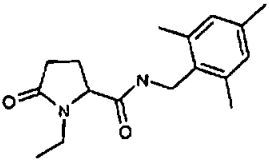
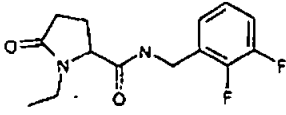
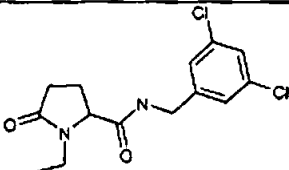
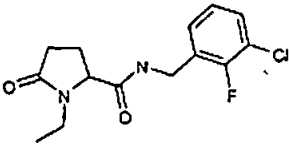
Examples 65-69

- 30 The examples tabulated below (Table 5) were prepared in a manner analogous to
that described for Example 12 by substituting the appropriate amine (or salt thereof)
for the [(2,3,4-trifluorophenyl)methyl]amine used in the procedure described for
example 12. All of the amines used to make the compounds shown in Table 5 are
available from commercial sources or can be prepared using routes described
35 previously in the chemical literature unless stated otherwise. The 1-ethyl-5-oxo-
proline used to prepare these examples was in turn prepared using method C as
described for example 12 apart from in the case of example 65 where method A was

74

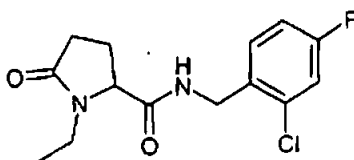
used.

Table 5

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E65	 N-[(2,3-dichloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	333	2.31
E66	 1-ethyl-5-oxo-N-[(2,4,6-trimethylphenyl)methyl]-prolinamide	288	2.41
E67	 N-[(2,3-difluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	283	1.96
E68	 N-[(3,5-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	315	2.39
E69	 N-[(3-chloro-2-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	299	2.22

5

Example 70 N-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide (E70)



1-ethyl-5-oxoproline (0.100 g, 0.64 mmol) was dissolved in a mixture of dichloromethane (3 ml) and dimethylformamide (0.5 ml) and to this was added N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.147 g, 0.77 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (0.104 g, 0.77 mmol), and N-ethyl morpholine (0.244 ml, 1.92 mmol). The mixture was stirred for 10 minutes and then 2-chloro-4-fluorobenzylamine was added to the mixture and stirring continued overnight (~16 hrs) at room temperature. The mixture was then treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~2 ml) and stirred vigorously for ~10 minutes. The aqueous layer was removed using a phase separator and extracted with more dichloromethane (2 x 1 ml). The combined organic layers were concentrated to give a yellow oil and this was subsequently purified by mass-directed automated HPLC to give *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide (0.065 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+ = 299$, retention time = 2.16 minutes. Enantiomeric excess = 80.9%, as determined by chiral chromatography method B, indicative of *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide retention time = 5.91 minutes

The 1-ethyl-5-oxoproline used in the above procedure was prepared as described below:

(i) D-pyroglutamic acid ethyl ester (4.17 g, 26.53 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (30 ml) and ethyl iodide (2.23 ml, 27.86 mmol) was added to give a pale yellow solution. This was cooled to 0°C and sodium hydride (60% in oil, 1.11g, 27.86 mmol) was added portionwise. After addition of all the sodium hydride the mixture was stirred at 0°C for a further 20 minutes until most of the bubbling had stopped. The mixture was then warmed to room temperature and stirred overnight under argon. The mixture was then treated with saturated aqueous ammonium chloride solution (~5 ml). The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with more dichloromethane (3 x 20 ml). The combined organic layers were dried by passing through a phase separator and then concentrated to a green/brown oil (3.2 g). This was purified by automated flash silica column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give ethyl 1-ethyl-5-oxoprolinate as a yellow oil (1.33 g) which was used in

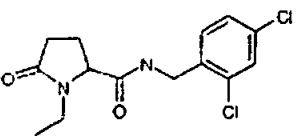
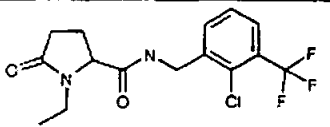
the next step without further purification.

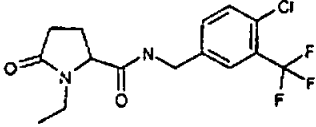
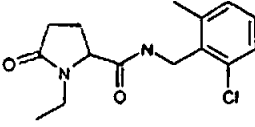
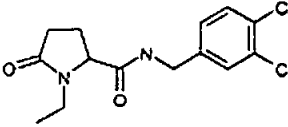
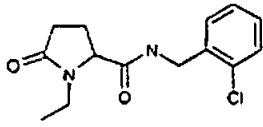
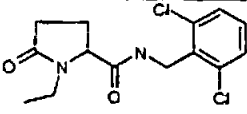
- (ii) Ethyl 1-ethyl-5-oxoprolinate (1.33 g, 7.18 mmol) was dissolved in ethanol (10 ml) and cooled to 0°C in an ice bath. To this was added 12.5M aqueous sodium hydroxide solution (1.72 ml, 21.53 mmol) and the mixture was stirred for ~4 hours at 0°C. The ethanol was evaporated under vacuum and the aqueous residue was acidified with 2N aqueous hydrogen chloride to pH1. The volume of the aqueous phase was reduced to ~3 ml under vacuum and then extracted with a 3:1 mixture of chloroform and isopropanol using a phase separator. The combined organic layers were concentrated to a pale yellow oil which on drying in vacuo crystallized to give 1-ethyl-5-oxoproline as a white solid (1.12 g).

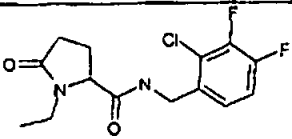
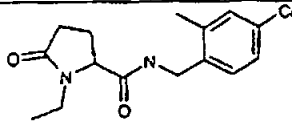
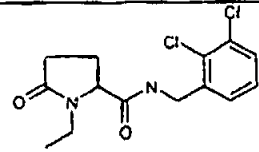
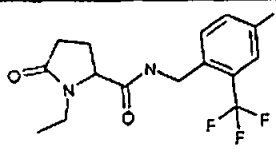
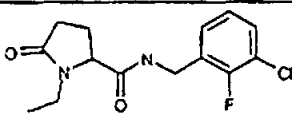
Examples 71-82

- In a manner analogous to that described for Example 70 above the compounds tabulated below (Table 6) were prepared by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the 2-chloro-4-fluorobenzylamine used in the above procedure. All of the amines used to make the compounds shown in Table 6 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature unless stated otherwise. Where determined (by chiral HPLC), the enantiomeric excess (e.e.) of the isomer shown is also listed along with its stereospecific name, the chiral separation method used in parantheses and the corresponding retention time (r.t.) in that method.

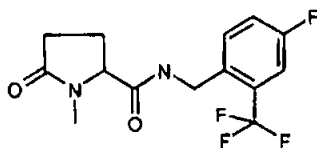
Table 6

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	e.e.
E71	 <i>N</i> -[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	315	2.36	75.6% (C) <i>N</i> -[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide r.t.=6.18mins
E72	 <i>N</i> -[(2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	349	2.44	76.4% (A)

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	e.e.
	<i>N</i> -{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide			<i>N</i> -{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide r.t.=4.44mins
E73	 <i>N</i> -{[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide	349	2.5	77.3% (A) <i>N</i> -{[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide r.t.=4.45mins
E74	 <i>N</i> -{[2-chloro-6-methylphenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide	295	2.23	77.6% (C) <i>N</i> -{[2-chloro-6-methylphenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide r.t.=5.08mins
E75	 <i>N</i> -{[3,4-dichlorophenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide	315	2.38	76.3% (C) <i>N</i> -{[3,4-dichlorophenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide r.t.=4.38mins
E76	 <i>N</i> -{[2-chlorophenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide	281	2.06	
E77	 <i>N</i> -{[2,6-dichlorophenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide	315	2.11	

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	e.e.
E78	 <chem>CCN(CC)C(=O)N(Cc1cc(F)c(Cl)cc1)C(=O)N2CCOC2=O</chem> <i>N</i> -[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	317	2.13	
E79	 <chem>CCN(CC)C(=O)N(Cc1cc(Cl)cc(C)c1)C(=O)N2CCOC2=O</chem> <i>N</i> -[(4-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	295	2.24	
E80	 <chem>CCN(CC)C(=O)N(Cc1cc(Cl)c(Cl)cc1)C(=O)N2CCOC2=O</chem> <i>N</i> -[(2,3-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	315	2.23	
E81	 <chem>CCN(CC)C(=O)N(Cc1cc(F)c(C(F)(F)F)cc1)C(=O)N2CCOC2=O</chem> 1-ethyl- <i>N</i> -[(4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-5-oxoprolinamide	333	2.25	
E82	 <chem>CCN(CC)C(=O)N(Cc1cc(F)c(Cl)cc1)C(=O)N2CCOC2=O</chem> <i>N</i> -[(3-chloro-2-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide	299	2.1	

Example 83 *N*-[(4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide (E83)



N-([4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-1-methyl-5-oxoproline was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoproline (Example 70) but 1-methyl-5-oxoproline (prepared as describe below) was substituted for 1-ethyl-5-oxoproline and {[4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine was substituted for 2-chloro-4-fluorobenzylamine.

LC/MS [M+H]⁺ = 319, retention time = 2.14 minutes.

10

The 1-methyl-5-oxoproline used in the above procedure was prepared as described below:

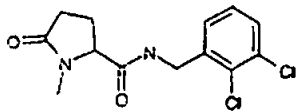
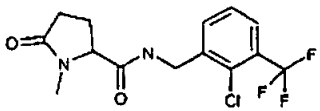
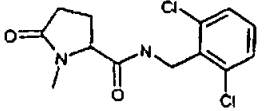
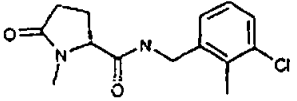
- (i) D-pyroglutamic acid ethyl ester (4.0 g, 25.5 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (25 ml) and cooled to 0°C. Methyl iodide (1.66 ml, 26.7 mmol) was added and stirring continued for 10 minutes under argon at 0°C. Sodium hydride (60% in oil, 1.6 g, 26.7 mmol) was then added portionwise (allowing each portion to react). After addition of all the sodium hydride the mixture was allowed to warm to room temperature and stirred overnight under argon. The mixture was then treated with saturated aqueous ammonium chloride solution (~15 ml) and stirred for 4 hrs.
- 20 The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with more dichloromethane. The combined organic layers were dried over magnesium sulphate and then concentrated to a dark oil. This was purified by flash silica column chromatography, eluting with a 0-75% gradient of ethyl acetate in hexane, to give ethyl 1-methyl-5-oxoprolinate as a colourless oil (0.27 g) which was used in the next
- 25 step without further purification.

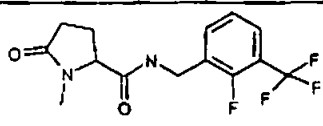
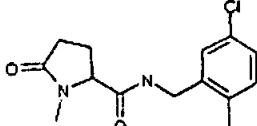
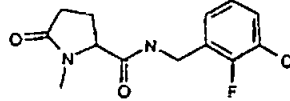
- (ii) Ethyl 1-methyl-5-oxoprolinate (0.27 g, 1.58 mmol) was dissolved in ethanol (5 ml) and cooled to 0°C in an ice bath. To this was added 2M aqueous sodium hydroxide solution (3 ml) and the mixture was stirred for ~4 hours at 0°C. The ethanol was evaporated under vacuum and the aqueous residue was acidified with 2N aqueous
- 30 hydrogen chloride to pH1. The volume of the aqueous phase was reduced to ~3 ml under vacuum and then extracted with a 3:1 mixture of chloroform and isopropanol using a phase separator. The combined organic layers were concentrated to give 1-methyl-5-oxoproline which was used without further purification.

Examples 84-90

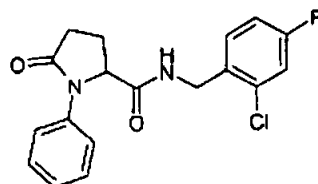
Furthermore, and also in a manner analogous to that described for Example 70 above the compounds tabulated below (Table 7) were prepared by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the 2-chloro-4-fluorobenzylamine used in Example 70. All of the amines used to make the compounds shown in Table 7 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature unless stated otherwise. 1-Methyl-5-oxoproline (prepared as describe above for example 81) was substituted for the 1-ethyl-5-oxoproline used in Example 70. Where determined (by chiral HPLC), the enantiomeric excess (e.e.) of the isomer shown is also listed along with its stereospecific name, the chiral separation method used in parantheses and the corresponding retention time (r.t.) in that method.

15 Table 7

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	e.e.
E84	 <i>N</i> -[(2,3-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	301	2.11	
E85	 <i>N</i> -[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	335	2.27	94.1% (A) <i>N</i> -[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-D-prolinamide r.t.=5.17mins
E86	 <i>N</i> -[(2,6-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	301	1.98	
E87	 <i>N</i> -[(2-chloro-4-methylphenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	281	2.11	

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)	e.e.
	<i>N</i> -[(3-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide			
E88	 <i>N</i> -[(2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	319	2.16	
E89	 <i>N</i> -[(5-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	281	2.1	
E90	 <i>N</i> -[(3-chloro-2-fluorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide	285	1.98	

Example 91 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-phenyl-prolinamide (**E91**)



- 5 5-oxo-1-phenyl-proline (0.072 g, 0.35 mmol, prepared as described below) was dissolved in dichloromethane (~2 ml) and dimethylformamide (0.5 ml) and to this was added *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.081 g, 0.42 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (0.057 g, 0.42 mmol), and *N*-ethyl morpholine (0.134 ml, 1.05 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and
- 10 then [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.067 g, 0.42 mmol) was added.

Stirring was continued overnight at room temperature and then the mixture was diluted with more dichloromethane and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The aqueous layer was separated and extracted with more dichloromethane (3 aliquots). The combined organic layers were then washed with
5 brine before drying over magnesium sulphate. Evaporation of the solvent then gave a yellow oil which was purified by mass-directed automated HPLC. Finally trituration of the material thus obtained with a 1:1 mixture of dichloromethane and diethyl ether gave, after filtration and drying, pure *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-phenyl-prolinamide (0.031 g) as a white solid. LC/MS $[M+H]^+ = 347$, retention time =
10 2.46 minutes.

The 5-oxo-1-phenyl-proline used in the above procedure was prepared as follows:

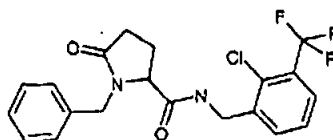
(i) D-pyroglutamic acid ethyl ester (0.200 g, 1.27 mmol) was dissolved in dioxane (5 ml) and treated with tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0) (0.058 g, 0.06 mmol),
15 bromobenzene (0.351 ml, 1.53 mmol), cesium carbonate (0.621 g, 1.91 mmol) and Xantphos™ (0.110 g, 0.19 mmol). The resulting mixture was heated at reflux overnight and then allowed to cool to room temperature. The mixture was diluted with methanol and filtered. The filtrate was evaporated in vacuo and then partitioned between dichloromethane and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The
20 aqueous layer was extracted with more dichloromethane (3 aliquots) and then the combined organic layers were washed with brine and dried over magnesium sulphate. Evaporation of the solvent gave a bright yellow residue which was purified by flash silica column chromatography, eluting with a gradient of 0-50% ethyl acetate in hexane, to give methyl 5-oxo-1-phenylprolinate (0.078 g) as a yellow oil. This was
25 used in the next step without further purification.

(ii) Methyl 5-oxo-1-phenylprolinate (0.078 g, 0.36 mmol) was combined with 2N aqueous sodium hydroxide (2 ml) in ethanol (2 ml) at 0°C. The mixture was stirred at between -10°C and 0°C for 5 hours. The solvent was then evaporated *in vacuo* and the residue was acidified to pH1 by the addition of 2M aqueous hydrogen chloride.
30 To this was added dichloromethane and the mixture was passed through a phase separator. The aqueous layer was washed with more dichloromethane and then the combined dichloromethane layers were evaporated to give 5-oxo-1-phenyl-proline (0.072 g) as a yellow gum which was used without further purification in the next step.

35

Example 92 *N*-[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-5-oxo-1-(phenylmethyl)-prolinamide (E92)

43



5-oxo-1-(phenylmethyl)proline (0.100 g, 0.46 mmol, prepared as described below) was dissolved in a mixture of dichloromethane (2.5 ml) and dimethylformamide (0.5 ml) and to this were added N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.105 g, 0.55 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (0.074 g, 0.55 mmol), and N-ethyl morpholine (0.143 ml, 1.37 mmol). The mixture was stirred for 10 minutes and then N-([2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)amine (0.115 g, 0.55 mmol) was added and the mixture was stirred for 1 hr. Saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (10 ml) was added and the mixture stirred vigorously for 15 minutes. The organic phase was separated with a phase separator and the aqueous phase was washed with further aliquots of dichloromethane (3 x 10 ml). The organic fractions were combined and dried over magnesium sulphate. The solvent was then evaporated and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give pure N-([2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-5-oxo-1-(phenylmethyl)-D-prolinamide. LC/MS [M+H]⁺ = 411, retention time = 2.77 minutes. Enantiomeric excess = 100.0%, as determined by chiral chromatography method D, indicative of N-([2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-5-oxo-1-(phenylmethyl)-D-prolinamide retention time = 10.58 minutes.

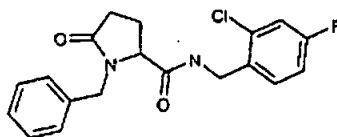
The 5-oxo-1-(phenylmethyl)proline used in the method described above was prepared as follows:

D-glutamic acid (1.47 g, 10 mmol) was dissolved in 2N aqueous sodium hydroxide (10 ml, 20 mmol) and stirred for 15 minutes. The mixture was then treated with a solution of benzaldehyde (1.1 ml, 10 mmol) in ethanol (3 ml) and stirred at room temperature for 30 minutes. The mixture was cooled to 0°C and treated with sodium borohydride (0.030 g). The mixture was allowed to warm to room temperature with stirring over 4 hrs and then washed with diethyl ether (three times) before acidifying with concentrated hydrochloric acid to pH2. The resulting precipitate was filtered off and washed with diethyl ether before slurrying in ethanol and azeotroping three times with more ethanol. Finally the remaining material was slurried in ethanol (50 ml) and heated at reflux for 16 hrs. The mixture was then cooled to room temperature and

84

evaporated *in vacuo*. Drying afforded pure 5-oxo-1-(phenylmethyl)proline.

Example 93 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-(phenylmethyl)prolinamide (E93)



5

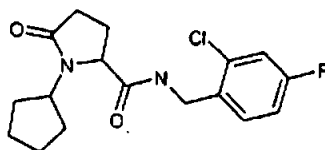
N-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-5-oxo-1-(phenylmethyl)prolinamide was prepared in an analogous manner to that described for the synthesis of *N*-[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-5-oxo-1-(phenylmethyl)prolinamide (Example 92) above but using [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine in the place of [(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]amine.

10

LC/MS [M+H]⁺ = 361, retention time = 2.54 minutes.

Example 94 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-cyclopentyl-5-oxoprolinamide (E94)

15



1-Cyclopentyl-5-oxoproline (0.100 g, 0.51 mmol, prepared as described below) was dissolved in a mixture of dichloromethane (2.5 ml) and dimethylformamide (0.5 ml) and to this were added *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.117 g, 0.61 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (0.082 g, 0.61 mmol), and *N*-ethyl morpholine (0.2 ml, 1.52 mmol). The mixture was stirred for 10 minutes and then [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.097 g, 0.61 mmol) was added and the mixture was stirred overnight. Saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (10 ml) was added and the mixture stirred vigorously for 15 minutes. The organic phase was separated with a phase separator and the aqueous phase was washed with further aliquots of dichloromethane (3 x 10 ml). The organic fractions were combined and dried over magnesium sulphate. The solvent was then evaporated and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-cyclopentyl-5-oxoprolinamide.

20

25

30

LC/MS [M+H]⁺ = 339, retention time = 2.4 minutes.



The 1-Cyclopentyl-5-oxoproline used in the above procedure was prepared as follows:

- (i) Dimethyl D-glutamate hydrochloride (2.1 g, 10.00 mmol) was dissolved in methanol (7.5 ml) and tetrahydrofuran (15 ml) and the mixture was then treated with crushed sodium hydroxide (0.402 g, 10.05 mmol) for 20 minutes under argon. At this stage acetic acid (0.575 ml, 10.05 mmol) and cyclopentanone (0.889 ml, 10.05 mmol) were added to the mixture. After stirring for 10-15 minutes the mixture was cooled to 0°C in an ice-bath and treated with sodium borohydride pellets (0.380 g, 10.05 mmol). The mixture was stirred for 3 hrs under argon and allowed to warm to room temperature. Once the mixture had reached room temperature the methanol was evaporated off and the residue was diluted with dichloromethane (20 ml) and washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (~25 ml). The organic layer was separated and the aqueous layer was back-extracted with more dichloromethane (2 x 20 ml). The combined organic layers were concentrated *in vacuo* to give an oil. The oil was dissolved in toluene (10 ml) and heated at reflux overnight. The solvent was then evaporated and the resulting residue was purified by flash-silica column chromatography, eluting with a gradient of 0-10% methanol in dichloromethane, to give crude methyl 1-cyclopentyl-5-oxoprolinate which was used without further purification in the next step.
- (ii) Methyl 1-cyclopentyl-5-oxoprolinate (0.560 g, 2.65 mmol) was dissolved in ethanol (10 ml) and cooled to 0°C in an ice-bath. 2M aqueous sodium hydroxide (5 ml) was added and the mixture was stirred at ice temperature for 4 hrs. The ethanol was then evaporated under vacuum and the aqueous residue was acidified to pH1 by the addition of 2N aqueous hydrogen chloride. The volume of resulting aqueous mixture was reduced under vacuum to ~3 ml and this was then extracted with a 3:1 mixture of chloroform and isopropanol respectively using a phase separator. The aqueous layer was washed with more dichloromethane and then the combined organic fractions were evaporated to give crude 1-cyclopentyl-5-oxoproline which was used in subsequent reactions without further purification.

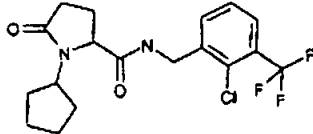
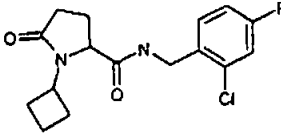
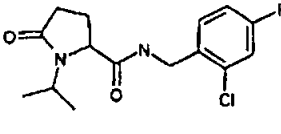
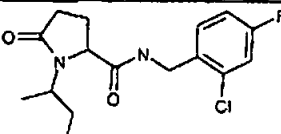
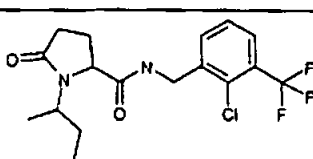
Examples 95-99

- In a manner analogous to that described for Example 94 above the compounds tabulated below (Table 8) were prepared by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine used in the above procedure and/or substituting the appropriate aldehyde or ketone for the cyclopentanone used in the above procedure. All of the amines used to make the

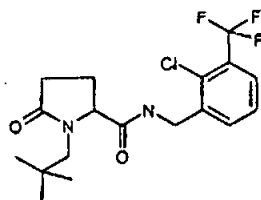
6

compounds shown in Table 8 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature unless stated otherwise,

5 Table 8

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E95	 <i>N</i> -([2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-1-cyclopentyl-5-oxoproline	389	2.66
E96	 <i>N</i> -([2-chloro-4-fluorophenyl]methyl)-1-cyclobutyl-5-oxoproline	325	2.35
E97	 <i>N</i> -([2-chloro-4-fluorophenyl]methyl)-1-(1-methylethyl)-5-oxoproline	313	2.19
E98	 <i>N</i> -([2-chloro-4-fluorophenyl]methyl)-1-(1-methylpropyl)-5-oxoproline	327	2.35
E99	 <i>N</i> -([2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-1-(1-methylpropyl)-5-oxoproline	377	2.6

Example 100 *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoprolinamide (**E100**)

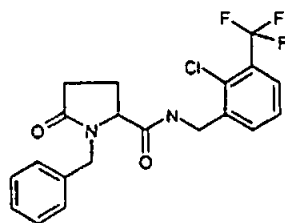


- 5 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline (0.100 g, 0.5 mmol, prepared as described below) was dissolved in dichloromethane (5 ml) and to this was added *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.191 g, 1 mmol), and 1-hydroxybenzotriazole (0.135 g, 1 mmol). The mixture was stirred for 30 minutes at room temperature and then {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine (0.209 g, 1 mmol) was added and the mixture was stirred overnight at room temperature. The mixture was then washed sequentially with water, 3N aqueous citric acid, and three more times with water then dried by filtering through a hydromatrix cartridge (Varian 5 g). The solvent was then evaporated and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoprolinamide. 15 LC/MS [M+H]⁺ = 391/393, retention time = 2.78 minutes.

The 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline used in the method described above was prepared as follows:

- 20 L-glutamic acid (1.47 g, 10 mmol) was dissolved in 2N aqueous sodium hydroxide (10 ml, 20 mmol) and treated with a solution of trimethylacetaldehyde (1.09 ml, 10 mmol) in ethanol (5 ml) and then stirred at room temperature for 30 minutes. The mixture was cooled to 0°C and treated with sodium borohydride (0.130 g). The mixture was allowed to warm to room temperature with stirring over 4 hrs and then 25 acidified to neutral pH. Concentration *in vacuo* was followed by slurrying in ethanol and azeotroping three times with more ethanol. Finally the remaining material was suspended in ethanol (50 ml) and heated at reflux for 48 hrs. The mixture was then cooled to room temperature, salts were filtered off and the solvent was evaporated *in vacuo* to give a gum. Trituration with diethyl ether followed by drying afforded pure 30 solid 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline (1.1 g).

Example 101 *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxo-1-(phenylmethyl)-prolinamide (**E101**)



N-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxo-1-(phenylmethyl)-D-prolinamide was prepared in an analogous manner to that described for the synthesis of *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoprolinamide (example 100) above but using 5-oxo-1-(phenylmethyl)proline in the place of 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline.

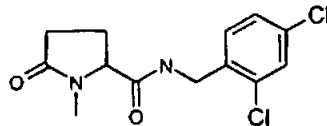
LC/MS $[M+H]^+ = 411/413$, retention time = 2.77 minutes.

Enantiomeric excess = 100.0%, as determined by chiral chromatography method D, indicative of *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxo-1-(phenylmethyl)-D-prolinamide

retention time = 8.09 minutes

5-oxo-1-(phenylmethyl)proline was prepared in an analogous manner to that described above for the synthesis of 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline (example 100) but using benzaldehyde in the place of trimethylacetaldehyde.

Example 102 *N*-{[2,4-dichlorophenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide (E102)

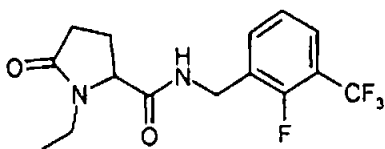


N-{[2,4-dichlorophenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-{[4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide (Example 83) but [(2,4-dichlorophenyl)methyl]amine was substituted for [4-fluoro-2-(trifluoromethyl)phenyl]methylamine.

LC/MS $[M+H]^+ = 300.9$, retention time = 2.13 minutes.

Enantiomeric excess = 97.8%, as determined by chiral chromatography method A, indicative of *N*-{[2,4-dichlorophenyl]methyl}-1-methyl-5-oxo-D-prolinamide retention time = 6.25 minutes

Example 103 1-ethyl-*N*-{[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxoprolinamide (E103)



1-ethyl-*N*-{[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxoprolinamide was prepared in a manner analogous to that described above (see example 70) for *N*-{[2-chloro-4-fluorophenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-D-prolinamide but using 2-fluoro-3-trifluoromethylbenzylamine in the place of 2-chloro-4-fluorobenzylamine.
LC/MS [M+H]⁺ = 333, retention time = 2.24 minutes.

Examples 104-109

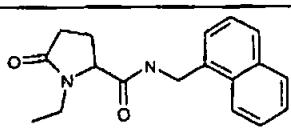
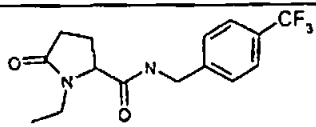
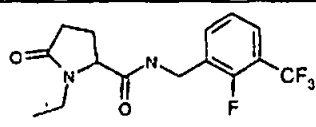
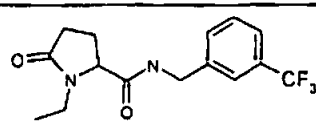
10

The examples tabulated below (Table 9) were prepared in a manner analogous to that described for Example 12 by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the [(2,3,4-trifluorophenyl)methyl]amine used in the procedure described for Example 12. All of the amines used to make the compounds shown in Table 9 are
15 available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature unless stated otherwise. The 1-ethyl-5-oxoproline used to prepare these examples was in turn prepared using method C as described for Example 12.

20 Table 9

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E104	 <i>N</i> -{[2-cyanophenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide	272	1.63
E105	 <i>N</i> -{[2-cyano-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide	340	2.11



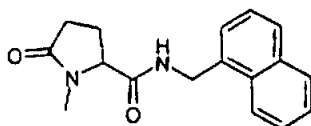
Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E106	 1-ethyl-N-(1-naphthalenylmethyl)-5-oxoprolineamide	297	2.17
E107	 1-ethyl-5-oxo-N-([4-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)prolineamide	315	2.30
E108	 1-ethyl-N-([2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-5-oxoprolineamide	333	2.39
E109	 1-ethyl-5-oxo-N-([3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)prolineamide	315	2.34

The 2-(aminomethyl)-6-(trifluoromethyl)benzonitrile trifluoroacetate required for the synthesis of example 105 was prepared as follows:

- (i) ([2-Fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)amine (1.93 g, 10 mmol) was dissolved in dichloromethane (40 ml) and treated with a solution of bis(1,1-dimethylethyl) dicarbonate (2.18 g, 10 mmol) in dichloromethane (10 ml). After stirring at room temperature for 2 hrs the solvent was evaporated to give a pale yellow solid which was purified by silica-gel column chromatography, eluting with a 1:10-1:5 gradient of ethyl acetate in hexanes, to give pure 1,1-dimethylethyl ([2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)carbamate (2 g).
- (ii) 1,1-Dimethylethyl ([2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)carbamate (1.17 g, 4 mmol) was dissolved in dimethylsulphoxide (5 ml) and treated with potassium cyanide (0.260 g, 4 mmol). The mixture was then heated at 80°C under argon for 1.5 hrs and then at 120°C overnight (16 hrs). Additional potassium cyanide (0.260 g, 4

- mmol) was then added and heating continued at 120°C for a further 24 hrs. The mixture was then cooled to room temperature, quenched with water, and diluted with ethyl acetate. The organic extracts were separated and washed three times with water and then with saturated aqueous sodium chloride solution. Drying and
- 5 evaporation gave a brown gum which was purified by silica-gel column chromatography, eluting with a 1:10-1:5 gradient of ethyl acetate in hexanes, to give partially pure 1,1-dimethylethyl {[2-cyano-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}carbamate as a dark solid/semi-solid which was used in the next step without further purification. LC/MS [M-BOC+H]⁺ = 201, retention time = 1.19 minutes.
- 10 (iii) 1,1-Dimethylethyl {[2-cyano-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}carbamate (0.190 g, 0.63 mmol) was dissolved in dichloromethane (4 ml) and treated with trifluoroacetic acid (4 ml). The mixture was stirred at room temperature for 1 hr and then evaporated. The residue was twice taken up in dichloromethane and evaporated again to give crude 2-(aminomethyl)-6-(trifluoromethyl)benzonitrile trifluoroacetate
- 15 which was used without further purification.

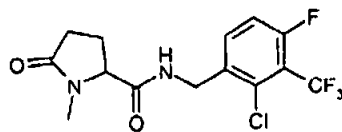
Example 110 1-methyl-N-(1-naphthalenylmethyl)-5-oxoprolinamide (E110)



- 20 1-methyl-5-oxoproline (0.050 g, 0.35 mmol, prepared in a manner analogous to that described above for example 51), N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.081 g, 0.42 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (0.057 g, 0.42 mmol), N-ethyl morpholine (0.166 ml, 1.05 mmol) and (1-naphthalenylmethyl)amine were
- 25 combined in dichloromethane (~8 ml) and the mixture was stirred for ~20 hrs at room temperature. The mixture was then washed with 2M aqueous hydrogen chloride (5 ml) and the organic layer was separated using a phase separator. The organic layer was washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate, separated as before, and then evaporated. The residue was purified by mass-directed automated
- 30 HPLC to give pure 1-methyl-N-(1-naphthalenylmethyl)-5-oxoprolinamide as a white solid (0.062 g).
- LC/MS [M+H]⁺ = 283, retention time = 2.1 minutes.

Example 111 N-([2-chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl)-1-methyl-5-

oxoprolinamide (E111)



- 5 1-methyl-5-oxoproline (0.057 g, 0.4 mmol, prepared in a manner analogous to that described above for example 51) dissolved in dichloromethane (4 ml) and treated with 2-ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline (0.104 g, 0.42 mmol). {[2-Chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine hydrochloride (0.105 g, 0.4 mmol, prepared as described below) was then added and the mixture was stirred at
- 10 room temperature for 4 hrs. The mixture was treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (10 ml) and stirred for 5 minutes. The organic phase was separated using a hydrophobic frit and then washed with 2N aqueous hydrogen chloride (2 x 10 ml). Evaporation of the organic phase then gave pure *N*-{[2-chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide (0.106 g).
- 15 LC/MS [M+H]⁺ = 353, retention time = 2.49 minutes.

The {[2-Chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine hydrochloride used in the method described above was prepared as follows:

- (i) 1-Chloro-3-fluoro-2-(trifluoromethyl)benzene (10 g, 50 mmol) was dissolved in
- 20 tetrahydrofuran (100 ml), cooled to -70°C under argon, and treated with a 1.4M solution of *sec*-butyl lithium in cyclohexane (37.5 ml, 52.5 mmol). Stirring was continued for 2 hrs and then trimethylsilyl chloride (6.7 ml, 52.5 mmol) was added and stirring continued, still at -70°C, for a further 1 hr. The mixture was allowed to warm to room temperature and the tetrahydrofuran was then removed *in vacuo*. The
- 25 residue was partitioned between diethyl ether and water and then the organic layer was separated and washed with 2N aqueous hydrogen chloride. The organic phase was separated and concentrated to give the crude product which was purified by flash silica-gel column chromatography, eluting with hexane, to give pure [4-chloro-2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl](trimethyl)silane as a clear oil (10.35 g).
- 30 (ii) 2,2,6,6-tetramethylpiperidine (3.3 ml, 19.44 mmol) was added slowly to a solution of *n*-butyl lithium (2.5M in toluene, 7.7 ml, 19.44 mmol) in tetrahydrofuran (75 ml) at -75°C under argon and stirred for 15 minutes. A solution of [4-chloro-2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl](trimethyl)silane (5 g, 18.5 mmol) in tetrahydrofuran (10 ml) was then added dropwise to the mixture, ensuring that the temperature of the mixture

- was kept below -65°C, and stirring was continued for 2 hrs. Excess solid carbon dioxide, which had previously been washed with tetrahydrofuran at -65°C, was added in lumps and the mixture was allowed to warm to room temperature over 2 hrs. The mixture was reduced under vacuum to give a pale yellow solid. This material was
- 5 partitioned between water which had been acidified to pH1 (200 ml) and diethyl ether (200 ml). The organic layer was separated and dried over anhydrous sodium sulphate. Evaporation gave a pale brown solid which was recrystallised from toluene to give pure 2-chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)-5-(trimethylsilyl)benzoic acid (3.85 g, in 3 batches) as white needles.
- 10 LC/MS [M-H]⁻ = 312, retention time = 3.29 minutes.
- (iii) A solution of potassium fluoride (0.367 g, 9.55 mmol) in water (15 ml) was added to a solution of 2-chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)-5-(trimethylsilyl)benzoic acid (1 g, 3.18 mmol) in tetrahydrofuran (50 ml) and the mixture was stirred at 100°C overnight. An additional aliquot of water (15 ml) and potassium fluoride (0.370 g, 9.62 mmol)
- 15 was added and heating at 100°C was continued for a further 4 hrs. The tetrahydrofuran was evaporated *in vacuo* and replaced with enough dimethylformamide to dissolve all solids. The mixture was heated overnight at 100°C but starting material still remained so more potassium fluoride (0.367 g, 9.55 mmol) was added and heating at 100°C continued for 7 days. At this stage almost all of the
- 20 starting material had disappeared so the reaction was evaporated to dryness under vacuum and taken up in 2N aqueous hydrogen chloride (75 ml) and diethyl ether (50 ml). The aqueous layer was separated and extracted with more diethyl ether (2 x 50 ml) and then the combined organic fractions were dried over sodium sulphate and evaporated to give crude product as a white solid. This was purified by
- 25 recrystallisation from toluene to give pure 2-chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)benzoic acid (0.566 g) as a white solid.
- (iv) 2-Chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)benzoic acid (0.560 g, 2.31 mmol), ammonium 1*H*-1,2,3-benzotriazol-1-olate (0.534 g, 3.47 mmol, prepared as described below), N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride
- 30 (0.643 g, 3.47 mmol), and N-ethyl morpholine (0.594 ml, 4.62 mmol) were stirred together in dichloromethane (30 ml) for a total of 3 hrs. Saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (30 ml) was added and the mixture was stirred for 15 minutes. The organic layer was separated using a hydrophobic frit and then washed with 2N aqueous hydrogen chloride (2 x 50 ml). Separation of the organic layer, again using
- 35 a hydrophobic frit, and evaporation *in vacuo* gave 2-chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)benzamide (0.493 g) as an off-white solid which was used without further purification in the subsequent step.

ad

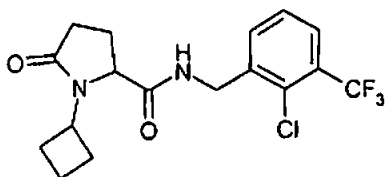
The ammonium 1*H*-1,2,3-benzotriazol-1-olate used in the step described above was prepared as follows:

Ammonium hydroxide (4.15 ml, 75 mmol) was added slowly to a solution of 1-hydroxybenzotriazole (10 g, 74 mmol) in tetrahydrofuran (100 ml) at 0°C (ice-bath) and stirred for 2 hrs. Filtration and washing with tetrahydrofuran gave ammonium 1*H*-1,2,3-benzotriazol-1-olate (10.57 g) as a white solid.

(v) 2-Chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)benzamide (0.490 g, 2.03 mmol) was treated with 1M borane in tetrahydrofuran (20.33 ml, 20.33 mmol) and stirred at 60°C overnight. The mixture was then treated with 2N aqueous hydrogen chloride until gas evolution ceased and then stirred at 100°C for 2 hrs. The mixture was reduced *in vacuo* and the residue was taken up in a minimum of water and washed with dichloromethane (30 ml). The pH of the aqueous layer was adjusted to pH11 by the addition of 2N aqueous sodium hydroxide solution and then extracted with dichloromethane (2 x 25 ml). The dichloromethane layers were separated using a hydrophobic frit, combined and evaporated *in vacuo* to leave a pale yellow oil. A 1M solution of hydrogen chloride in diethyl ether (3 ml, 3 mmol) was added and the resulting white solid was filtered off to give pure [[2-Chloro-4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]amine hydrochloride (0.210 g) which was used without further purification.

Example 112
oxoprolinamide (E112)

N-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1-cyclobutyl-5-



25

1-Cyclobutyl-5-oxoprolinone (0.238 g, 0.82 mmol) was suspended in dichloromethane (3 ml) and to this was added *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.188 g, 0.98 mmol), 1-Hydroxybenzotriazole (0.132 g, 0.98 mmol), and *N*-ethyl morpholine (0.313 ml, 2.46 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and then [[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]amine (0.205 g, 0.98 mmol) was added to the mixture and stirring continued for ~20 hrs at room temperature. The mixture was then diluted

30

with more dichloromethane and treated with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The dichloromethane layer was separated and the aqueous layer was extracted with 3 further aliquots of dichloromethane. The combined organic extracts were washed with water and then with brine, dried over anhydrous magnesium sulphate and evaporated *in vacuo* to give the crude product. This was further purified by mass-directed automated HPLC to give pure *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-cyclobutyl-5-oxoprolinamide (0.105 g) as a white solid.

LC/MS $[M+H]^+ = 375$, retention time = 2.53 minutes.

10

The 1-Cyclobutyl-5-oxoprolinamide used in the above procedure was prepared in an analogous manner to that described previously for the synthesis of methyl 1-ethyl-5-oxo-prolinate (see example 3) but using cyclobutanone in the place of acetaldehyde and with the addition of a subsequent ester deprotection step (using standard conditions, i.e. sodium hydroxide in methanol) being carried out (as opposed to the combined deprotection and amide coupling described in example 3).

15

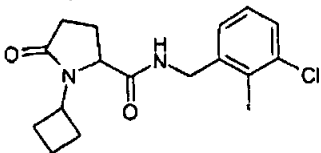
Examples 113-117

20

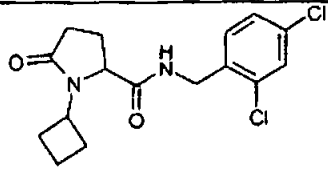
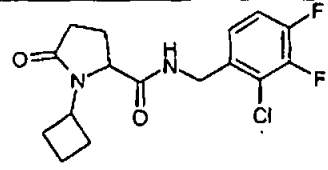
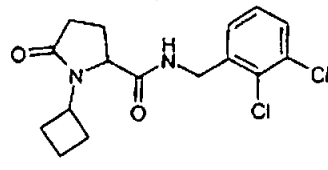
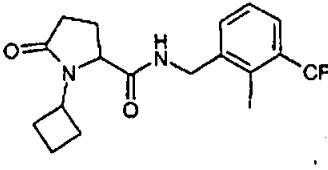
In a manner analogous to that described for Example 112 above the compounds tabulated below (Table 10) were prepared by substituting the appropriate amine (or salt thereof) for the {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine used in the above procedure. All of the amines used to make the compounds shown in Table 10 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature unless stated otherwise.

25

Table 10

Example no.	Chemical name	$[M+H]^+$	Retention time (mins)
E113	 <i>N</i> -[(3-chloro-2-methylphenyl)methyl]-1-cyclobutyl-5-oxoprolinamide	321	2.39

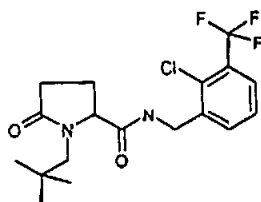
16

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E114	 1-cyclobutyl-N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-5-oxoprolinamide	341	2.46
E115	 N-[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-cyclobutyl-5-oxoprolinamide	343	2.32
E116	 1-cyclobutyl-N-[(2,3-dichlorophenyl)methyl]-5-oxoprolinamide	341	2.38
E117	 1-cyclobutyl-N-[(2-methyl-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-5-oxoprolinamide	355	2.51

The [(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]amine hydrochloride required for the synthesis of N-[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-cyclobutyl-5-oxoprolinamide (Example 115) was prepared as described above for example 36.

5

Example 118 N-[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoprolinamide (**E118**)



N-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-(2,2-dimethylpropyl)-5-

oxoprolinamide was prepared in an analogous manner to that described for example

5 100 but using 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline prepared as described below.

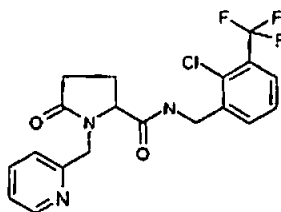
LC/MS $[M+H]^+$ = 391/393, retention time = 2.76 minutes.

The 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline used in the method described above was prepared as follows:

- 10 D-glutamic acid (2.21 g, 15 mmol) was dissolved in 2N aqueous sodium hydroxide (15 ml, 30 mmol), cooled to 0°C, and treated with a solution of trimethylacetaldehyde (1.63 ml, 15 mmol) in ethanol (3 ml) and then stirred at room temperature for 45 minutes. The mixture was again cooled to 0°C and treated portion-wise with sodium borohydride (0.189 g, 5 mmol). The mixture was allowed to warm to room
- 15 temperature with stirring over 4 hrs then after washing with diethyl ether it was acidified to ~pH4 using concentrated hydrochloric acid. The resulting precipitate was collected by filtration, washed with diethyl ether and then dried in a vacuum oven overnight. The solid was then suspended in ethanol (50 ml) and the mixture was heated at reflux for 24 hrs. Concentration and trituration with hexane then afforded
- 20 1-(2,2-dimethylpropyl)-5-oxoproline (1.51 g) as a solid which was used without further purification.

Example 119

N-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxo-1-(2-pyridinylmethyl)prolinamide (E119)



5-oxo-1-(2-pyridinylmethyl)proline (0.220 g, 1 mmol, prepared as described below), *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.384 g, 2 mmol), and 1-hydroxybenzotriazole (0.308 g, 2 mmol) were stirred together in

dichloromethane (10 ml) at room temperature for 30 minutes. The mixture was then treated with {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine (0.314 g, 1.5 mmol) and the mixture was stirred overnight at room temperature. The mixture was concentrated and partitioned between ethyl acetate and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution. The aqueous layer was separated and extracted with ethyl acetate and then the combined ethyl acetate fractions were washed with 3 portions of water and then with saturated aqueous sodium chloride solution. Drying over sodium sulphate and concentration gave a solid residue which was purified by mass-directed automated HPLC to give *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxo-1-(2-pyridinylmethyl)prolinamide (0.263 g) as a buff-coloured solid.

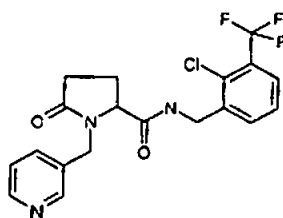
LC/MS [M+H]⁺ = 412/414, retention time = 2.15 minutes.

The 5-oxo-1-(2-pyridinylmethyl)proline used in the method described above was prepared as follows:

D-glutamic acid (2.21 g, 15 mmol) was dissolved in 2N aqueous sodium hydroxide (15 ml, 30 mmol) at 0°C and then treated with pyridine-2-carboxaldehyde (1.43 ml, 15 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 45 minutes and then cooled to 0°C and treated with sodium borohydride (0.189 g, 5 mmol). The mixture was allowed to warm to room temperature with stirring over 4 hrs then after washing twice with diethyl ether it was acidified to pH5-6. The aqueous layer was concentrated then azeotroped three times with toluene and then with a 1:1 ethanol:toluene mixture and finally with ethanol. The residue was then taken up in ethanol (50 ml) and refluxed for 8 hrs. Concentration gave an oil which when dried *in vacuo* gave 5-oxo-1-(2-pyridinylmethyl)proline (2.60 g) as a foam which was used without any further purification.

Example 120

N-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)prolinamide (**E120**)



5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)proline (0.210 g, 1 mmol, prepared as described below),

4d

N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.383 g, 2 mmol), and 1-hydroxybenzotriazole (0.306 g, 2 mmol) were stirred together in dichloromethane (10 ml) at room temperature for 30 minutes. The mixture was then treated with {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine (0.314 g, 1.5 mmol) and the mixture was stirred overnight at room temperature. The mixture was concentrated and partitioned between ethyl acetate and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate. The aqueous layer was separated and extracted with more ethyl acetate and then the combined ethyl acetate fractions were washed sequentially with 3 portions of water and then with saturated aqueous sodium chloride solution. Drying over magnesium sulphate and concentration gave a solid residue which was purified by mass-directed automated HPLC to give pure N-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)prolinamide (0.031 g).

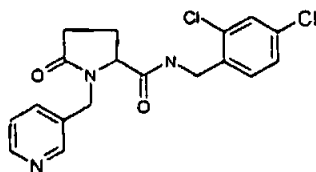
LC/MS [M+H]⁺ = 412/414, retention time = 1.83 minutes.

15

The 5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)proline used in the method described above was prepared as follows:

D-glutamic acid (2.21 g, 15 mmol) was dissolved in 2N aqueous sodium hydroxide (15 ml, 30 mmol) at 0°C and then treated with pyridine-3-carboxaldehyde (1.41 ml, 15 mmol) in ethanol (3 ml). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and then cooled to 0°C and treated portion-wise with sodium borohydride (0.189 g, 5 mmol). The mixture was allowed to warm to room temperature with stirring over 4 hrs then after washing with diethyl ether it was acidified to pH5-6 using concentrated hydrochloric acid. The resulting precipitate was collected by filtration, washed with diethyl ether, and dried *in vacuo*. This material was then taken up in ethanol (50 ml) and refluxed overnight. Fine solids were removed by filtration and then concentration gave 5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)proline (2.04 g) as a white solid which was used without any further purification.

30 Example 121 N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)prolinamide (E121)



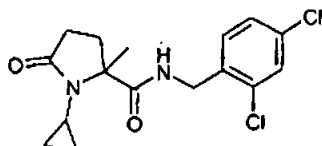
100

N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)prolinamide was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-5-oxo-1-(3-pyridinylmethyl)prolinamide (**E120**) but using [(2,4-dichlorophenyl)methyl]amine in the place of [(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]amine.

LC/MS $[M+H]^+$ = 378/380/382, retention time = 1.70 minutes.

Example 122

1-cyclopropyl-*N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-2-methyl-5-oxoprolinamide (**E122**)



10

To a solution of (2,4-dichlorophenyl)methyl isocyanide (0.047 g, 0.25 mmol) and levulinic acid (0.041 ml, 0.4 mmol) in methanol (2 ml) was added cyclopropylamine (0.042 ml, 0.6 mmol). The mixture was heated to 100°C for 30 minutes in a microwave reactor. The solvent was removed *in vacuo* and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give 1-cyclopropyl-*N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-2-methyl-5-oxoprolinamide (0.054 g) as a white solid.

15

LC/MS $[M+H]^+$ = 341/343, retention time = 2.57 minutes.

Examples 123-126

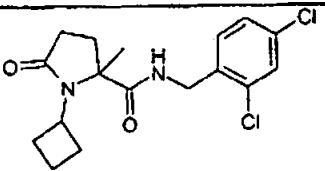
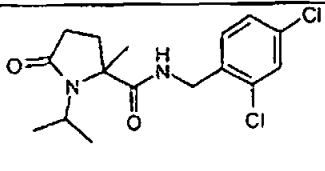
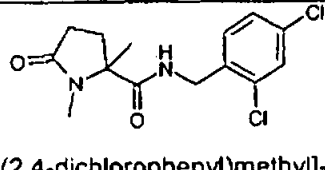
20

In a manner analogous to that described for Example 122 above the compounds tabulated below (Table 11) were prepared by substituting the appropriate amine for the cyclopropylamine used in the above procedure. All of the amines used to make the compounds shown in Table 11 are available from commercial sources or can be prepared using routes described previously in the chemical literature.

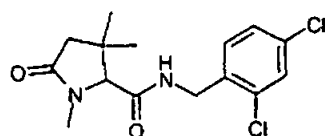
25

Table 11

Example no.	Chemical name	$[M+H]^+$	Retention time (mins)
E123	 <i>N</i> -[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-ethyl-2-methyl-5-oxoprolinamide	329	2.49

Example no.	Chemical name	[M+H] ⁺	Retention time (mins)
E124	 1-cyclobutyl- <i>N</i> -[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-2-methyl-5-oxoprolinamide	355/357	2.78
E125	 <i>N</i> -[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-2-methyl-1-(1-methylethyl)-5-oxoprolinamide	343/345	2.64
E126	 <i>N</i> -[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1,2-dimethyl-5-oxoprolinamide	315	2.39

Example 127 *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1,3,3-trimethyl-5-oxoprolinamide (E127)



5

To a solution of (2,4-dichlorophenyl)methyl isocyanide (0.094 g, 0.5 mmol) and 3,3-dimethyl-4-oxobutanoic acid (0.065 mg, 0.5 mmol, prepared as described below) in methanol (2 ml) was added methylamine (0.080 ml, 33% solution in ethanol). The mixture was heated to 100°C for 30 minutes in a microwave reactor. The solvent was removed *in vacuo* and the residue was purified by mass-directed automated HPLC to give a colourless gum which was triturated with diethyl ether to give *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1,3,3-trimethyl-5-oxoprolinamide (0.043 g) as a sticky white solid.

LC/MS [M+H]⁺ = 329/331, retention time = 2.42 minutes.

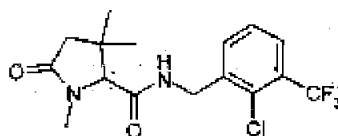
15

102

The 3,3-dimethyl-4-oxobutanoic acid used in the procedure described above was prepared as follows:

3,3-dimethyl-4-pentenoic acid (1.3 g, 10.14 mmol) was dissolved in dichloromethane (25 ml) and cooled to -78°C in a CO₂/acetone bath. Oxygen was bubbled through the mixture for 5 minutes followed by ozone for 25 minutes (giving a blue solution). Oxygen was bubbled through the mixture for a further 5 minutes followed by argon for 10 minutes. Dimethylsulphide (2.23 ml, 30.4 mmol) was then added to the mixture and the mixture was removed from the cooling bath and stirred for 2.5 hrs. The resulting colourless solution was reduced *in vacuo* to give 3,3-dimethyl-4-oxobutanoic acid as a colourless oil which was used without further purification.

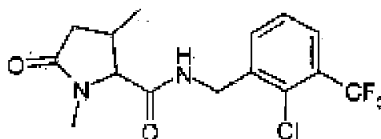
Example 128 *N*-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1,3,3-trimethyl-5-oxoprolinamide (**E128**)



N-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1,3,3-trimethyl-5-oxoprolinamide was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[[2,4-dichlorophenyl]methyl]-1,3,3-trimethyl-5-oxoprolinamide (**E127**) but using [2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl isocyanide (prepared as described in example 40) in the place of (2,4-dichlorophenyl)methyl isocyanide.

LC/MS [M+H]⁺ = 363/365, retention time = 2.49 minutes.

Example 129 *N*-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1,3-dimethyl-5-oxoprolinamide (**E129**)



1,3-Dimethyl-5-oxoprolinone (0.620 g, 3.6 mmol, prepared as described below), *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.822 g, 4.3 mmol), 1-Hydroxybenzotriazole (0.581 g, 4.3 mmol), *N*-ethyl morpholine (1.4 ml, 10.8 mmol), and [[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]amine (0.828 g, 3.96 mmol) were

combined in a mixture of dichloromethane (10 ml) and dimethylformamide (5 ml) and stirred under argon overnight. The mixture was then washed sequentially with water (50 ml), 0.5 N aqueous hydrogen chloride (50 ml), water (50 ml), saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (50 ml) and water (50 ml). The dichloromethane layer
5 was passed through a hydrophobic frit and evaporated *in vacuo* to give the crude product. This was further purified by mass-directed automated HPLC (10 x 0.100 g injections) to give pure *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1,3-dimethyl-5-oxoprolineamide (0.613 g).

LC/MS [M+H]⁺ = 349, retention time = 2.31, 2.38 minutes (two diastereoisomers).

10

The 1,3-dimethyl-5-oxoproline used in the above procedure was prepared as follows:

(i) (*R,R,R*)-2-hydroxypinen-3-one (10.9 g, 64.8 mmol) and glycine-*t*-butyl ester (13 g, 97.2 mmol) in anhydrous toluene (200 ml) was treated with boron trifluoride-diethyl etherate (0.460 g, 3.24 mmol) and then heated, under argon, for 6 hrs at reflux. The
15 mixture was then cooled to room temperature and stirred overnight. Filtration through a sinter followed by evaporation gave a yellow gum which was purified by automated flash silica-gel column chromatography (using a Biotage SP4), eluting with a mixture of 25% ethyl acetate in hexane, to give some pure 1,1-dimethylethyl *N*-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ylidene]glycinate (3.68
20 g) and some mixed fractions. The impure material was further purified, again using automated flash silica-gel column chromatography (Biotage SP4), but eluting with a gradient of 0-25% ethyl acetate in hexane (0-15% over 10 column volumes and 15-25% over 5 column volumes), to give a further crop of pure 1,1-dimethylethyl *N*-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ylidene]glycinate (1.73 g).
25 The two batches of pure 1,1-dimethylethyl *N*-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ylidene]glycinate were combined (5.41 g) and this material was used in the next step.

(Note: The glycine-*t*-butyl ester used above could also be replaced with glycine-*t*-butyl ester hydrochloride and a molar equivalent of potassium carbonate)

30 (ii) A solution of 1,1-dimethylethyl *N*-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ylidene]glycinate (11.05 g, 39.3 mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (100 ml) was cooled to -30°C and treated with a 3M solution of methylmagnesium bromide in diethyl ether (17.1 ml, 51.1 mmol). 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (7.78 g, 51.1 mmol) was then added and the mixture
35 was stirred for an additional 20 minutes at -30°C. The mixture was then treated with ethyl crotonate and stirring continued for 1 hr. The mixture was quenched by addition of saturated aqueous ammonium chloride solution (35 ml) and then

extracted with ethyl acetate (3 x 100 ml). The combined organic extracts were dried over sodium sulphate, filtered and evaporated to give a yellow oil. This material was purified by automated flash silica-gel column chromatography (using a Biotage SP4), eluting with a gradient of 0-20% (over 5 column volumes) then 20-35% (over 14 column volumes) ethyl acetate in hexane, to give 1-(1,1-dimethylethyl) 5-ethyl N-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ylidene]-3-methylglutamate (4.2 g) which was used in the next step.

(iii) A 10% aqueous solution of citric acid (11 ml, 5.6 mmol) was added to a solution of 1-(1,1-dimethylethyl) 5-ethyl N-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ylidene]-3-methylglutamate (2g) in tetrahydrofuran (10 ml) and the mixture was stirred at room temperature for 4 days. The mixture was the evaporated and the residue suspended in water (50 ml) and washed with diethyl ether (100 ml). The aqueous phase was then adjusted to pH~7 using aqueous sodium hydrogen carbonate solution and then extracted with diethyl ether (3 x 100 ml). The organic fractions were combined, dried over sodium sulphate, filtered and evaporated to give 1-(1,1-dimethylethyl) 5-ethyl 3-methylglutamate (1.1 g) as a yellow oil which was used in the next step without further purification.

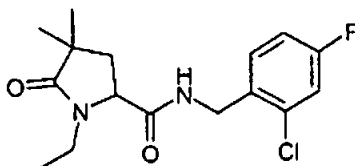
(iv) 1-(1,1-Dimethylethyl) 5-ethyl 3-methylglutamate (1.1 g, 4.5 mmol) was left to stand, attached to a high vacuum line, overnight and then over a weekend. Starting material was still evident at this stage so toluene (30 ml) was added and the resulting mixture was heated at 110°C overnight. Evaporation gave 1,1-dimethylethyl 3-methyl-5-oxoprolinate (0.79 g) which was used in the next step without further purification.

(v) 1,1-dimethylethyl 3-methyl-5-oxoprolinate (0.79 g, 3.96 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (8 ml) and treated with methyl iodide (0.27 ml, 4.36 mmol). The mixture was then cooled to 0°C and treated portion-wise with sodium hydride (60% in oil, 0.170 g, 4.36 mmol). The mixture ceased bubbling after 30 minutes at 0°C and was then allowed to warm to room temperature and stirred overnight. The mixture was quenched by addition of saturated aqueous ammonium chloride solution (10 ml) and the organic layer was separated and put aside. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 x 20 ml) and the combined extracts were dried using a hydrophobic frit. All of the organic fractions (including that put aside earlier) were combined and evaporated to give crude 1,1-dimethylethyl 1,3-dimethyl-5-oxoprolinate (0.770 g) as a yellow gum which was used without further purification.

(vi) 1,1-Dimethylethyl 1,3-dimethyl-5-oxoprolinate (0.770 g, 3.62 mmol) was suspended in dichloromethane (5 ml) and treated with trifluoroacetic acid (0.4 ml, 5.4 mmol). The mixture was stirred for 5 hrs and then evaporated. Azeotroping the

resulting residue with toluene then gave unreacted starting material (0.600 g). This was again taken up in dichloromethane (2 ml) and treated with trifluoroacetic acid (2 ml) once more. After stirring for 2 hrs the mixture was evaporated and the residue again azeotroped with toluene (10 ml) to give crude 1,3-dimethyl-5-oxoproline (0.760 g) which was used without any additional purification.

Example 130 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolinamide (**E130**)



1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline (0.130 g, 0.702 mmol, prepared as described below), 1-Hydroxybenzotriazole (0.161 g, 1.053 mmol), and *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (0.202 g, 1.053 mmol) were dissolved in dichloromethane (5 ml) and stirred for 15 minutes at room temperature. [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine (0.134 g, 0.842 mmol) and diisopropylethylamine (0.184 ml, 1.053 mmol) were then added to the mixture and stirring continued overnight at room temperature. The mixture was then concentrated *in vacuo* and the residue partitioned between ethyl acetate and water and extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed sequentially with 3N citric acid, water, saturated aqueous sodium carbonate, water (x3), and then brine and dried over anhydrous sodium sulfate. Concentration gave a crude solid which was subsequently purified by mass-directed automated HPLC to give *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolinamide (0.146 g) as a solid. LC/MS [M+H]⁺ = 327/329, retention time = 2.35 minutes.

The 1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline used in the above procedure was prepared as described below:

(i) (S)-(+)-L-5-trityloxymethyl-2-pyrrolidinone (7.51 g, 20 mmol) was dissolved in dimethylformamide (25 ml) at 0°C and treated portion wise with sodium hydride (60% suspension in oil, 0.880 g, 22 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 1 hr and then treated with ethyl iodide (1.78 ml, 22 mmol). The mixture was allowed to warm to room temperature and then stirred overnight. The mixture was then poured onto ice and extracted with ethyl acetate (x3). The combined organic extracts were washed sequentially with water, 50% aqueous sodium chloride solution (3x), and

saturated aqueous sodium chloride solution, and then dried over sodium sulphate. Concentration gave a crude solid which was purified by automated flash silica-gel column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give pure 1-ethyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (7.09 g).

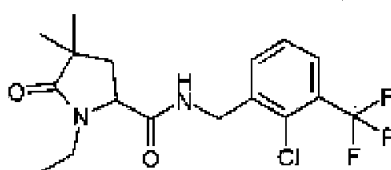
(ii) To a 2M solution of lithium diisopropylamide in tetrahydrofuran (1.912 ml, 3.82 mmol) at -78°C was added, drop-wise, a solution of 1-ethyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (1.34 g, 3.48 mmol) in tetrahydrofuran (10 ml) and the resulting mixture was stirred for 1 hr at -78°C. Iodomethane (0.239 ml, 3.82 mmol) was then added and after stirring for a further 1 hr at -78°C the mixture was allowed to warm to room temperature over 3 hrs. The mixture was then re-cooled to -78°C and treated, drop-wise, with a further aliquot of a 2M solution of lithium diisopropylamide in tetrahydrofuran (1.912 ml, 3.82 mmol). After stirring for an additional 1 hr at -78°C the mixture was again treated with iodomethane (0.239 ml, 3.82 mmol) and then the mixture was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. The mixture was quenched with saturated aqueous ammonium chloride and then extracted with ethyl acetate (2x). The combined organic extracts were then washed with water (3x) and then with saturated aqueous sodium chloride solution, dried over anhydrous sodium sulphate, and concentrated to a crude oily solid (1.7 g). The crude solid was purified by automated flash silica-gel column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give pure product fractions (i.e. 1-ethyl-3,3-dimethyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (0.468 g)) as well as pure monoalkylated material (i.e. 1-ethyl-3-methyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (0.524 g)) and a mixture of these two (0.240 g). The desired product was set aside while the 1-ethyl-3-methyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone and the mixed material were combined and dissolved in tetrahydrofuran (20 ml). This solution was then added drop wise to a 2M solution of lithium diisopropylamide in tetrahydrofuran (1.912 ml, 3.82 mmol) at -78°C and stirring at this temperature was continued for 1 hr. Iodomethane (0.239 ml, 3.82 mmol) was then added to the mixture and the mixture was allowed to warm to room temperature over 4 hrs. Workup as described above gave an additional batch of 1-ethyl-3,3-dimethyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-pyrrolidinone (0.846 g) as an oil which was combined with the material set aside earlier (total mass = 1.08 g) and used in the next step without further purification.

(iii) Amberlyst 15® (5.56 g, 26.1 mmol) was washed three times with methanol and then a solution of 1-ethyl-3,3-dimethyl-5-(((triphenylmethyl)oxy)methyl)-2-

pyrrolidinone (1.08 g, 2.61 mmol) in methanol (50 ml) was added. The mixture was left to stand for 4 days at room temperature and then the resin was removed by filtration (washing with methanol). The combined methanol fractions were concentrated to give a crude oil (1.62 g) which was purified by automated flash silica-gel column chromatography (Biotage SP4), eluting with a 0-100% gradient of ethyl acetate in hexane, to give pure 1-ethyl-5-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-2-pyrrolidinone (0.376 g) as an oil that solidified on standing.

(iv) 1-Ethyl-5-(hydroxymethyl)-3,3-dimethyl-2-pyrrolidinone (0.366 g, 2.1 mmol), sodium chlorite (0.387 g, 4.3 mmol), and a 1M aqueous sodium phosphate monobasic buffer solution (2.46 ml, 2.46 mmol) were combined in acetonitrile (3 ml) and heated to 40°C. A few crystals of TEMPO (2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy free radical) and approximately 1 drop of bleach (sodium hypochlorite solution, available chlorine >12%) were then added to the mixture and stirring continued at 40°C for 4 hrs. The mixture was then poured onto ice containing 1% w/w sodium sulphite and the resulting mixture was extracted with ethyl acetate (x3). The combined organic extracts were washed with saturated aqueous sodium chloride and then dried over magnesium sulphate and concentrated to give 1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline (0.392 g) as a white solid which was used without additional purification. LC/MS $[M+H]^+ = 186$.

Example 131 *N*-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolinamide (**E131**)

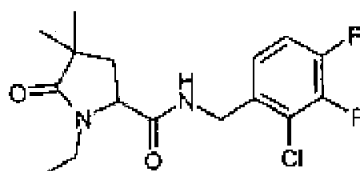


N-[[2-Chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolinamide was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[[2-chloro-4-fluorophenyl]methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolinamide (**E130**) but using [[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]amine in the place of [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine.

LC/MS $[M+H]^+ = 377/379$, retention time = 2.63 minutes.

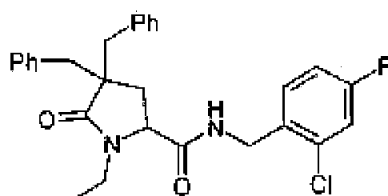
Example 132 *N*-[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoprolinamide (**E132**)

108



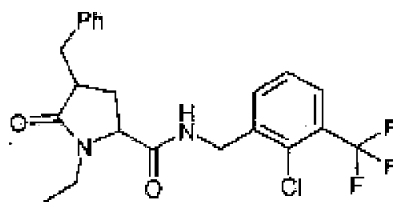
N-[(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline (**E130**) but using [(2-chloro-3,4-difluorophenyl)methyl]amine hydrochloride (prepared as described above for Example 36) in the place of [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine. LC/MS [M+H]⁺ = 345/347, retention time = 2.43 minutes.

- 10 **Example 133** *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-4,4-bis(phenylmethyl)proline (**E133**)



- 15 *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-4,4-bis(phenylmethyl)proline was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline (**E130**) but using 1-ethyl-5-oxo-4,4-bis(phenylmethyl)proline in the place of 1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline. 1-Ethyl-5-oxo-4,4-bis(phenylmethyl)proline was prepared in a manner analogous to that described for 1-ethyl-4,4-dimethyl-5-oxoproline in example 130 above but using 1-ethyl-3,3-bis(phenylmethyl)-5-[[[(triphenylmethyl)oxy]methyl]-2-pyrrolidinone (isolated as a side-product in method B, Example 37) in place of 1-ethyl-3,3-dimethyl-5-[[[(triphenylmethyl)oxy]methyl]-2-pyrrolidinone. LC/MS [M+H]⁺ = 479/481, retention time = 3.32 minutes.

- 25 **Example 134** *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)proline (**E134**)

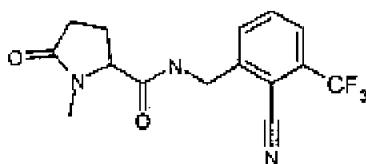


109

N-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)prolinamide was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-prolinamide (E37), but using {[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}amine in the place of [(2-chloro-4-fluorophenyl)methyl]amine. Method B, as described in Example 37, was used to prepare the 1-ethyl-5-oxo-4-(phenylmethyl)-proline.
LC/MS [M+H]⁺ = 439/441, retention time = 2.99 minutes.

Example 135

N-{[2-Cyano-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide (E135)

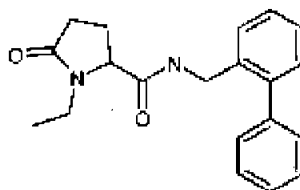


N-{[2-Cyano-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-{[2-cyano-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-ethyl-5-oxoprolinamide (E105) but using 1-methyl-5-oxo-proline in place of 1-ethyl-5-oxo-proline.

LC/MS [M+H]⁺ = 326, retention time = 2.02 minutes.

Example 136

N-(2-biphenylmethyl)-1-ethyl-5-oxoprolinamide (E136)



N-(2-biphenylmethyl)-1-ethyl-5-oxoprolinamide was prepared in a manner analogous to that described above for the synthesis of *N*-[(2,3-dimethylphenyl)methyl]-1-ethyl-5-oxoprolinamide (E50) but using (2-biphenylmethyl)amine in place of 2,3-dimethyl benzylamine.

LC/MS [M+H]⁺ = 323, retention time = 2.38 minutes.

Microwave Reactor

110

Where indicated in the above examples, the microwave reactor used was a Biotage Initiator™. Reactions were carried out using normal power output unless specified otherwise.

5

Mass-directed automated HPLC

Where indicated in the above examples, purification by mass-directed automated HPLC was carried out using the following apparatus and conditions:

10

Hardware

Waters 2525 Binary Gradient Module

Waters 515 Makeup Pump

Waters Pump Control Module

15

Waters 2767 Inject Collect

Waters Column Fluidics Manager

Waters 2996 Photodiode Array Detector

Waters ZQ Mass Spectrometer

Gilson 202 fraction collector

20

Gilson Aspec waste collector

Software

Waters MassLynx version 4 SP2

25

Column

The columns used are Waters Atlantis, the dimensions of which are 19mm x 100mm (small scale) and 30mm x 100mm (large scale). The stationary phase particle size is 5µm.

30

Solvents

A : Aqueous solvent = Water + 0.1% Formic Acid

B : Organic solvent = Acetonitrile + 0.1% Formic Acid

Make up solvent = Methanol : Water 80:20

Needle rinse solvent = Methanol

35

Methods

There are five methods used depending on the analytical retention time of the

111

compound of interest. They have a 13.5-minute runtime, which comprises a 10-minute gradient followed by a 3.5 minute column flush and re-equilibration step.

Large/Small Scale 1.0-1.5 = 5-30% B

Large/Small Scale 1.5-2.2 = 15-55% B

5 Large/Small Scale 2.2-2.9 = 30-85% B

Large/Small Scale 2.9-3.6 = 50-99% B

Large/Small Scale 3.6-5.0 = 80-99% B (in 6 minutes followed by 7.5 minutes flush and re-equilibration)

10 Flow rate

All of the above methods have a flow rate of either 20mls/min (Small Scale) or 40mls/min (Large Scale).

15 Chiral HPLC

Apparatus and conditions used to characterize enantiomeric purity of selected samples was as follows:

Method (A)

20 Instrument: Agilent 1100 Series Liquid Chromatogram

Column: Chiralpak AD (250mm x 4.6mm; 10um particle size)

Mobile phase: Heptane: absolute ethanol (70:30) v/v pump-mixed

Flow rate: 1ml/min

Temperature: Ambient

25 U.V. Wavelength: 215nm

Method (B)

Instrument: Agilent 1100 Series Liquid Chromatogram

Column: Chiralpak AD (250mm x 4.6mm; 10um particle size)

30 Mobile phase: Heptane: absolute ethanol (50:50) v/v pump-mixed

Flow rate: 1ml/min

Temperature: Ambient

U.V. Wavelength: 215nm

35 Method (C)

Instrument: Agilent 1100 Series Liquid Chromatogram

Column: Chiralpak AD (250mm x 4.6mm; 10um particle size)

112

Mobile phase: Heptane: absolute ethanol (80:20) v/v pump-mixed

Flow rate: 1ml/min

Temperature: Ambient

U.V. Wavelength: 215nm

5

Method (D)

Instrument: Agilent 1100 Series Liquid Chromatogram

Column: Chiralpak AS (250mm x 4.6mm; 10µm particle size)

Mobile phase: Heptane: absolute ethanol (80:20) v/v pump-mixed

10

Flow rate: 1ml/min

Temperature: Ambient

U.V. Wavelength: 215nm

15

Liquid Chromatography / Mass Spectrometry

Analysis of the above Examples by Liquid Chromatography / Mass Spectrometry (LC/MS) was carried out using the following apparatus and conditions:

20

Hardware

Agilent 1100 Gradient Pump

Agilent 1100 Autosampler

Agilent 1100 DAD Detector

Agilent 1100 Degasser

25

Agilent 1100 Oven

Agilent 1100 Controller

Waters ZQ Mass Spectrometer

Sedere Sedex 85

30

Software

Waters MassLynx version 4.0 SP2

Column

The column used is a Waters Atlantis, the dimensions of which are 4.6mm x 50mm.

35

The stationary phase particle size is 3µm.

Solvents

113

A : Aqueous solvent = Water + 0.05% Formic Acid

B : Organic solvent = Acetonitrile + 0.05% Formic Acid

Method

- 5 The generic method used has a 5 minute runtime.

Time / min	%B
0	3
0.1	3
4	97
4.8	97
4.9	3
5.0	3

The above method has a flow rate of 3ml/mins.

The injection volume for the generic method is 5ul.

- 10 The column temperature is 30deg.

The UV detection range is from 220 to 330nm.

Pharmacological data

- 15 Compounds of the invention may be tested for *in vitro* biological activity at the P2X7 receptor in accordance with the following studies:

Ethidium Accumulation Assay

- 20 Studies were performed using NaCl assay buffer of the following composition (in mM): 140mM NaCl, HEPES 10, *N*-methyl-D-glucamine 5, KCl 5.6, D-glucose 10, CaCl₂ 0.5 (pH 7.4). HEK293 cells, expressing human recombinant P2X7 receptors, were grown in poly-L-lysine pretreated 96 well plates for 18-24 h. (The cloning of the human P2X7 receptor is described in US 6,133,434). The cells were washed twice with 350µl of assay buffer before addition of 50µl of test compound. The cells were
- 25 then incubated at room temperature (19-21°C) for 30 min before addition of ATP and ethidium (100µM final assay concentration). The ATP concentration was chosen to be close to the EC₅₀ for the receptor type and was 1mM for studies on the human P2X7 receptor. Incubations were continued for 8 or 16 min and were terminated by addition of 25µl of 1.3M sucrose containing 5mM of the P2X7 receptor antagonist

114

reactive black 5 (Aldrich). Cellular accumulation of ethidium was determined by measuring fluorescence (excitation wavelength of 530nm and emission wavelength of 620nm) from below the plate with a Canberra Packard Fluorocount (Pangbourne, UK) or a Flexstation II (Molecular Devices). Antagonist plC_{50} values for blocking ATP responses were determined using iterative curve fitting techniques.

Fluorescent Imaging Plate Reader (FLIPR) Ca Assay

Studies were performed using NaCl assay buffer of the following composition (in mM) for human P2X7: 137 NaCl; 20 HEPES; 5.37 KCl; 4.17 $NaHCO_3$; 1 $CaCl_2$; 0.5 $MgSO_4$; and 1g/L of D-glucose (pH 7.4).

HEK293 cells, expressing human recombinant P2X7 receptors, were grown in poly-L-lysine pretreated 384 well plates for 42-48h. (The cloning of the human P2X7 receptor is described in US 6,133,434). The cells were washed three times with 80 μ l of assay buffer, loaded for 1h at 37°C with 2 μ M Fluo4 (Teflabs), washed three times again, and left with 30 μ l buffer before the addition of 10 μ l of 4x concentrated test compound. The cells were then incubated at room temperature for 30 mins before addition (online, by FLIPR384 or FLIPR3 instrument (Molecular Devices)) of Benzoylbenzoyl-ATP (BzATP) 60 μ M final assay concentration. The BzATP concentration was chosen to be close to the EC_{50} for the receptor type. Incubations and reading were continued for 90sec, and intracellular calcium increase was determined by measuring fluorescence (excitation wavelength of 488nm and emission wavelength of 516nm) from below the plate, with FLIPR CCD camera. Antagonist plC_{50} values for blocking BzATP responses were determined using iterative curve fitting techniques.

The compounds of Examples 1-136 were tested in the FLIPR Ca Assay and/or the Ethidium Accumulation Assay for human P2X7 receptor antagonist activity and found to have plC_{50} values > 4.7 in the FLIPR Ca Assay and/or plC_{50} values > 5.5 in the Ethidium Accumulation Assay.

In Vivo data

Rat model of neuropathic pain

By placing loosely constrictive ligatures around the common sciatic nerve, a peripheral mononeuropathy can be produced, which thereby provides a rat model of

neuropathic pain, Bennet *et al.*, Pain, Vol.33, pp87-107 (1988). Adult male Random Hooded rats (180-200g) from Charles River, UK were anaesthetised with isoflurane (3%). The sciatic nerve in the left leg was exposed at mid thigh level and 4 loose ligatures of Chromic 4.0 gut tied around the nerve as described by Bennet *et al.*, Pain, Vol.33, pp87-107 (1988). The wound was closed and secured with staples. Sham rats underwent the same procedure but loose ligatures were not applied. The presence of mechanical (tactile) allodynia was assessed using manual application of Von Frey hair monofilaments. Monofilaments were applied in ascending order to the plantar region of the hind paw (range: 1.4g-26g). Each hair was applied for approx. 3-5 seconds until a paw withdrawal response was observed. After confirmation with reapplication of lower and/or higher hairs, the lowest hair to give a paw withdrawal was recorded as the threshold response (g). When stable allodynia was established rats were dosed orally 26-33 days post surgery with compound twice daily for 8 days with allodynia measurements recorded at least three times during the dosing period. *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (E10) and *N*-[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide (E51) significantly reversed CCI-induced mechanical allodynia compared to vehicle response.

Rat model of joint pain

By measuring hypersensitivity post intra-articular injection of FCA into the knee, the effectiveness of a potential analgesic in reversing FCA-induced hypersensitivity can be assessed in a joint pain model of chronic inflammatory pain. Adult male Random Hooded rats (150-180g) from Charles River, UK were briefly anaesthetised with isoflurane (3%). Rats were then injected with 150 μ l of Freund's complete adjuvant (FCA) into the left knee joint (intra-articularly, i.art). The ability to bear weight on each hindlimb (weight bearing, g) was measured prior to and following surgery using a Dual Channel Weight Averager (Linton Instruments). When a stable difference in weight bearing was established between the injected and contralateral paws, rats were typically dosed orally (normally 13-17 days post surgery) with compound twice daily for 5 days with weight bearing measurements recorded daily. *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (E10) and *N*-[(2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl)methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide (E51) significantly reversed FCA (i.art)-induced difference in weight bearing compared to vehicle response and produced ED50's <20mg/kg obtained from Area Under the Curve (AUC) calculations.

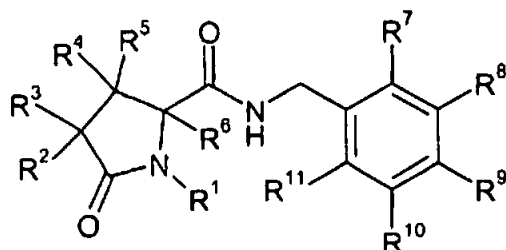
Rat model of acute inflammatory pain

A useful animal model for acute inflammatory pain is the Freund's Complete Adjuvant (FCA)-induced inflammation model. A similar model using carrageenan rather than FCA is described by Clayton *et al.* in Br. J. Pharmacol. 1997; 120, 219P. Adult male Random Hooded rats (180-220g) from Charles River, UK received an intraplantar (i.pl) injection of 100 μ l of FCA into the plantar surface of the left hind paw. The ability to bear weight on each hindlimb (weight bearing g) was measured prior to and 24 hours after the FCA injection using a Dual Channel Weight Averager (Linton Instruments). After the post-FCA reading, rats were typically dosed orally with compound after which weight bearing measurements were recorded. *N*-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-1-methyl-5-oxo-prolinamide (**E10**) and *N*-[[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1-methyl-5-oxoprolinamide (**E51**) significantly reversed FCA (i.pl)-induced difference in weight bearing compared to vehicle response and produced ED50's <20mg/kg obtained from dose response curves.

117

Claims

1. A compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

wherein:

R^1 represents C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl, C_{3-6} cycloalkylmethyl- or pyridinylmethyl-, any of which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or unsubstituted phenyl or benzyl;

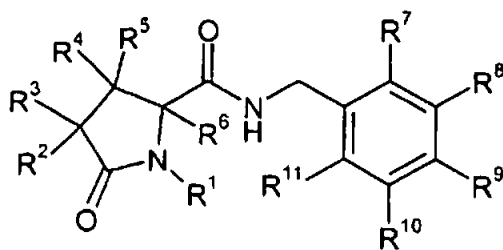
- 10 R^2 and R^3 independently represent hydrogen, halogen, C_{1-6} alkyl, arylmethyl-, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl-; and any of said C_{1-6} alkyl, arylmethyl-, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl or C_{3-6} cycloalkylmethyl- is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

R^4 , R^5 and R^6 independently represent hydrogen, fluorine or methyl; and

- 15 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} and R^{11} independently represent hydrogen, halogen, cyano, C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl or phenyl, and any of said C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, C_{2-6} alkynyl, C_{3-6} cycloalkyl or phenyl is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or R^{10} and R^{11} together with the carbon atoms to which they are attached form a benzene ring which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

20 with the proviso that when R^7 and R^{11} are both selected from hydrogen or fluorine, at least one of R^8 , R^9 and R^{10} is a halogen atom, or R^8 , R^9 and R^{10} are selected from the group consisting of hydrogen and CF_3 and one, but not more than one, of R^8 , R^9 and R^{10} is CF_3 .

- 25 2. A compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

wherein:

R¹ represents C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl, C₃₋₆ cycloalkylmethyl- or pyridinylmethyl-, any of which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or unsubstituted phenyl or benzyl;

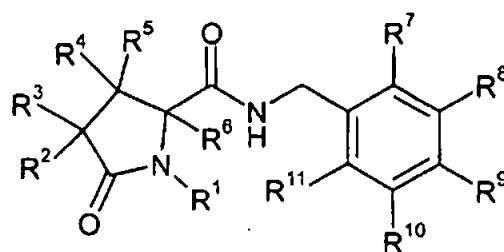
5 R² and R³ independently represent hydrogen, halogen, C₁₋₆ alkyl, arylmethyl-, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl-; and any of said C₁₋₆ alkyl, arylmethyl-, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl- is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

R⁴, R⁵ and R⁶ independently represent hydrogen, fluorine or methyl; and

10 R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ and R¹¹ independently represent hydrogen, halogen, cyano, C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or phenyl, and any of said C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or phenyl is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or R¹⁰ and R¹¹ together with the carbon atoms to which they are attached form a benzene ring which is optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

15 with the proviso that when R⁷ and R¹¹ are both selected from hydrogen or fluorine, at least one of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is a halogen atom, or not more than one of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is a CF₃ group.

20 3. A compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

wherein:

25 R¹ represents C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl, any of which may be optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms; or unsubstituted phenyl or benzyl;

R² and R³ independently represent hydrogen, halogen, C₁₋₆ alkyl, arylmethyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl; and any of said C₁₋₆ alkyl, arylmethyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or C₃₋₆ cycloalkylmethyl may be optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

30 R⁴, R⁵ and R⁶ independently represent hydrogen or fluorine; and

R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ and R¹¹ independently represent hydrogen, halogen, cyano, C₁₋₆ alkyl,

119

C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl, or phenyl; and any of said C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl or phenyl may be optionally substituted with 1, 2 or 3 halogen atoms;

with the proviso that when R⁷ and R¹¹ independently represent hydrogen or fluorine,
5 at least one of R⁸, R⁹ and R¹⁰ is a halogen atom.

4. A compound of formula (I) as defined in claim 1, wherein R¹ represents unsubstituted C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl, pyridinylmethyl-, phenyl or benzyl.

10 5. A compound of formula (I) as defined in claims 1 or 4, wherein R² and R³ independently represent hydrogen, fluorine or methyl.

6. A compound of formula (I) as defined in any one of claims 1, 4 or 5, wherein
15 R⁴, R⁵ and R⁶ independently represent hydrogen or methyl.

7. A compound of formula (I) as defined in any one of claims 1, 4, 5 or 6, wherein R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ and R¹¹ independently represent hydrogen, halogen, cyano, trifluoromethyl, unsubstituted C₁₋₆ alkyl; or R¹⁰ and R¹¹ together with the carbon atoms
20 to which they are attached form an unsubstituted benzene ring.

8. A compound of formula (I) as defined in claim 1, which is a compound of Example 1-136, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

25 9. A compound of formula (I) as defined in claim 1, which is *N*-{[2-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}-1-methyl-5-oxoprolinamide.

10. A pharmaceutical composition which comprises a compound of formula (I) as defined in any preceding claim and a pharmaceutically acceptable carrier or
30 excipient.

11. A compound, or pharmaceutically acceptable salt thereof, as defined in any one of claims 1 to 9 for use in therapy.

35 12. A method of treating a human or animal subject suffering from pain, inflammation or a neurodegenerative disease, which method comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) as



m

Nuevos antagonistas de receptores y sus métodos de uso

La presente invención se refiere a derivados de amida heterocíclicos que modulan la función del receptor P2X7 y son capaces de antagonizar los efectos de ATP en el receptor P2X7 (antagonistas de los receptores P2X7); a procedimientos para su preparación; a composiciones farmacéuticas que los contienen; y al uso de dichos compuestos en la terapia.

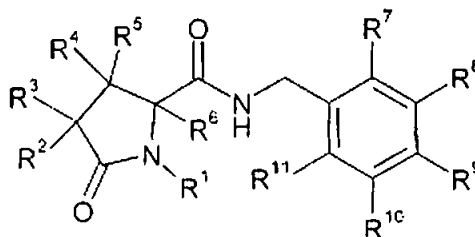
El receptor P2X7 es un canal iónico de apertura regulada por ligando que se expresa en células de linaje hematopoyético, p. ej. macrófagos, células microgliales, mastocitos y linfocitos (T y B) (véase, por ejemplo, Collo, *et al.* *Neuropharmacology*, Vol.36, pp1277-1283 (1997)), y es activado por nucleótidos extracelulares, particularmente adenosina trifosfato (ATP). La activación de los receptores P2X7 ha estado implicada en la formación de células gigantes, desgranulación, muerte celular citolítica, propagación de CD62L, regulación de proliferación celular y liberación de citocinas proinflamatorias tales como interleucina 1 beta (IL-1 β) (p. ej. Ferrari, *et al.*, *J. Immunol.*, Vol.176, pp3877-3883 (2006)) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) (p. ej. Hide, *et al.* *Journal of Neurochemistry*, Vol.75, pp965-972 (2000)). Los receptores P2X7 también se localizan en células que presentan antígenos, queratinocitos, células parótidas, hepatocitos, eritrocitos, células eritroleucémicas, monocitos, fibroblastos, células de médula ósea, neuronas y células mesangiales renales. Además, el receptor P2X7 se expresa por terminales presinápticas en los sistemas nerviosos central y periférico y se ha demostrado que media la liberación de glutamato en células gliales (Anderson, C. *et al.* *Drug. Dev. Res.*, Vol.50, página 92 (2000)).

La localización del receptor P2X7 a células claves del sistema inmunitario, acoplada con su capacidad de liberar mediadores inflamatorios importantes de estas células, sugiere una función potencial de los antagonistas de los receptores P2X7 en el tratamiento de una amplia gama de enfermedades que incluyen dolor y trastornos neurodegenerativos. Estudios preclínicos *in vivo* recientes han implicado directamente al receptor P2X7 tanto en el dolor inflamatorio como en el neuropático (Dell'Antonio *et al.*, *Neurosci. Lett.*, Vol.327, pp87-90 (2002)). Chessell, I.P., *et al.*, *Pain*, Vol.114, pp386-396 (2005), Honore *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Vol.319, p1376-1385 (2006)) mientras que hay datos *in vitro* que sugieren que los receptores P2X7 median la muerte inducida por las células microgliales de neuronas corticales (Skaper, S.D., *et al.*, *Glia*, Vol.54, p234-242 (2006)). Además, el aumento del receptor P2X7 se ha observado alrededor de placas β -amiloides en un modelo de ratón transgénico de enfermedad de Alzheimer (Parvathenani, L. *et al.* *J. Biol. Chem.*, Vol.278(15),

122

pp13309-13317 (2003)).

- La presente invención provee compuestos que modulan la función de los receptores P2X7 y son capaces de antagonizar los efectos de ATP en el receptor P2X7 (antagonistas de los receptores P2X7). En un primer aspecto, se provee un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable:



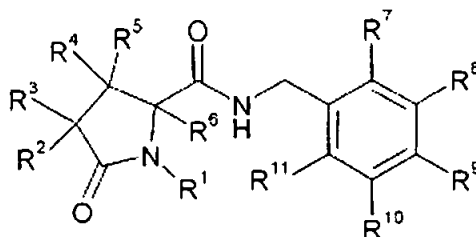
(I)

donde:

- R¹ representa alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilmetilo C₃₋₆ o piridinilmetilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o fenilo o bencilo no sustituido;
- R² y R³ independientemente representan hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, arilmetilo-, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o cicloalquilmetilo C₃₋₆; y cualquiera de dichos alquilo C₁₋₆, arilmetilo-, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o cicloalquilmetilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;
- R⁴, R⁵ y R⁶ independientemente representan hidrógeno, flúor o metilo; y
- R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o fenilo, y cualquiera de dichos alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o fenilo está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o R¹⁰ y R¹¹, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo benceno que está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;
- con la salvedad que cuando R⁷ y R¹¹ se seleccionan ambos de hidrógeno o flúor, por lo menos uno de R⁸, R⁹ y R¹⁰ es un átomo de halógeno, o R⁸, R⁹ y R¹⁰ se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno y CF₃, y uno, pero no más de uno, de R⁸, R⁹ y R¹⁰ es CF₃.

- En una realización, se provee un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable:

129

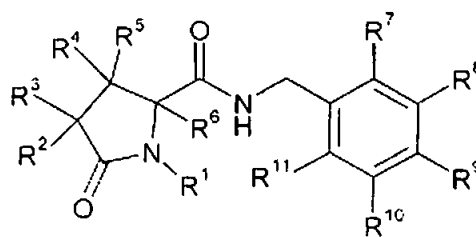


(I)

donde:

- 5 R^1 representa alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} , cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o fenilo o bencilo no sustituido;
- R^2 y R^3 independientemente representan hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , arilmetilo, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} ; y cualquiera de dichos alquilo C_{1-6} , arilmetilo, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} está opcionalmente
- 10 sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;
- R^4 , R^5 y R^6 independientemente representan hidrógeno o flúor; y
- R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} o fenilo; y cualquiera de dichos alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilo C_{3-6} o fenilo está
- 15 opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;
- con la salvedad que cuando R^7 y R^{11} independientemente representan hidrógeno o flúor, por lo menos uno de R^8 , R^9 y R^{10} es un átomo de halógeno.

En una realización, se provee un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable:



(I)

donde:

- R^1 representa alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} , cicloalquilmetilo C_{3-6} o piridinilmetilo, cualquiera de los cuales puede estar
- 25 opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o fenilo o bencilo no sustituido;

R^2 y R^3 independientemente representan hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , arilmetilo-, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} ; y cualquiera de dichos alquilo C_{1-6} , arilmetilo-, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;

- 5 R^4 , R^5 y R^6 independientemente representan hidrógeno, flúor o metilo; y R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} o fenilo, y cualquiera de dichos alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} o fenilo está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o R^{10} y R^{11} , junto con los
- 10 átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo benceno que está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; con la salvedad que cuando R^7 y R^{11} se seleccionan ambos a partir de hidrógeno o flúor, por lo menos uno de R^8 , R^9 y R^{10} es un átomo de halógeno, o no más de uno de R^8 , R^9 y R^{10} es un grupo CF_3 .

- 15 El término "alquilo", como se usa en este documento (cuando se usa como un grupo o como parte de un grupo) se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que contiene el número indicado de átomos de carbono. Por ejemplo, alquilo C_{1-6} quiere decir una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que contiene al menos 1 y a lo sumo 6 átomos de carbono. Los ejemplos de alquilo incluyen, pero sin
- 20 limitación; metilo (Me), etilo (Et), n-propilo, i-propilo, n-hexilo e i-hexilo.

- Como se usa en este documento, el término "alquenilo" se refiere a cadenas hidrocarbonadas lineales o ramificadas que contienen el número indicado de átomos de carbono donde al menos un enlace carbono-carbono es un doble enlace. Los ejemplos de alquenilo incluyen, aunque sin limitarse a ello, etenilo, propenilo, n-
- 25 butenilo, i-butenilo, n-pentenilo e i-pentenilo.

- Como se usa en este documento, el término "alquinilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que contiene el número indicado de átomos de carbono, donde al menos un enlace carbono-carbono es un triple enlace. Los ejemplos de alquinilo incluyen, aunque sin limitarse a ello, etinilo, propinilo, butinilo, i-pentinilo, n-
- 30 pentinilo, i-hexinilo y n-hexinilo.

El término 'cicloalquilo', a menos que se indique lo contrario, significa un anillo cerrado no aromático de 3 a 6 miembros, por ejemplo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

- El término 'arilo', tal como se utiliza en este documento, se refiere a un anillo
- 35 hidrocarbonado monocíclico o bicíclico C_{6-10} , en donde al menos un anillo es

105

aromático. Los ejemplos de dichos grupos incluyen fenilo y naftilo.

El término 'halógeno' se utiliza aquí para describir, salvo que se indique lo contrario, un grupo seleccionado de flúor, cloro, bromo o yodo.

En determinadas realizaciones de la invención, R^1 representa alquilo C_{1-6} ; alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} , o piridinilmetilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o fenilo o bencilo no sustituido; En una realización de la invención, R^1 representa alquilo C_{1-6} no sustituido, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} , piridinilmetilo, fenilo o bencilo. En otra realización, R^1 representa alquilo C_{1-4} no sustituido, cicloalquilo C_{3-5} , piridinilmetilo, fenilo o bencilo. Incluso en otra realización, R^1 representa metilo o etilo.

En determinadas realizaciones de la invención, R^2 y R^3 independientemente representan hidrógeno, halógeno alquilo C_{1-6} , bencilo, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} ; y cualquiera de dichos alquilo C_{1-6} , bencilo, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;

En una realización, R^2 y R^3 independientemente representan hidrógeno o halógeno; alquilo C_{1-6} no sustituido, bencilo, alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o cicloalquilmetilo C_{3-6} .

En otra realización, R^2 y R^3 independientemente representan hidrógeno, flúor o metilo. En otra realización, tanto R^2 como R^3 representan hidrógeno.

En una realización de la invención, R^4 y R^5 independientemente representan hidrógeno o metilo. En otra realización, R^5 representa hidrógeno o metilo. En otra realización, R^4 , R^5 y R^6 representan todos hidrógeno.

En otra realización de la invención, R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, trifluorometilo o alquilo C_{1-6} no sustituido; o R^{10} y R^{11} , junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo benceno no sustituido. En otra realización, R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, metilo o trifluorometilo; o R^{10} y R^{11} , junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo benceno no sustituido. Incluso en otra realización, R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} independientemente representan hidrógeno, cloro, flúor, bromo, metilo o trifluorometilo.

En una realización de la invención, se provee un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable, en donde:

R^1 representa alquilo C_{1-4} no sustituido, alquenilo C_{2-4} , cicloalquilo C_{3-5} , piridinilmetilo, fenilo o bencilo.

R^2 y R^3 representan ambos hidrógeno;

R^4 , R^5 y R^6 independientemente representan hidrógeno o metilo; y

R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} independientemente representan hidrógeno, cloro, flúor, bromo, metilo o trifluorometilo;

5 con la salvedad que cuando R^7 y R^{11} se seleccionan ambos de hidrógeno o flúor, por lo menos uno de R^8 , R^9 y R^{10} es un átomo de halógeno, o R^8 , R^9 y R^{10} se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno y CF_3 , y uno, pero no más de uno, de R^8 , R^9 y R^{10} es CF_3 .

10 Los compuestos particulares de acuerdo con la invención incluyen los Ejemplos 1 - 136 que se muestran a continuación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los antagonistas de P2X7 pueden ser útiles para prevenir, tratar o aliviar una diversidad de estados de dolor (p. ej. dolor neuropático, dolor inflamatorio crónico y dolor visceral), inflamación y neurodegeneración, en particular la enfermedad de 15 Alzheimer. Los antagonistas de P2X7 pueden también constituir agentes terapéuticos útiles en el manejo de la artritis reumatoidea y la enfermedad inflamatoria de los intestinos.

Los compuestos de la presente invención que modulan la función de los receptores P2X7 y son capaces de antagonizar los efectos de ATP en el receptor 20 P2X7 (antagonistas de los receptores P2X7) pueden ser antagonistas competitivos, agonistas inversos, moduladores alostéricos negativos o moduladores indirectos de la función del receptor.

Determinados compuestos de fórmula (I) pueden, en algunas circunstancias, formar sus sales de adición de ácidos. Se apreciará que para uso en los compuestos 25 medicinales de fórmula (I) se pueden utilizar como sales, en cuyo caso las sales deben ser farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las descritas por Berge, Bighley y Monkhouse, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. Los compuestos básicos de fórmula (I) pueden formar sales con ácidos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen el ácido 30 acético, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares.

Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen las formadas a 35 partir de ácidos: maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, pamoico, succínico,

clorhídrico, sulfúrico, bismetilensalicílico, metanosulfónico, etanodisulfónico, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, aspártico, esteárico, palmitico, itacónico, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico, ciclohexilsulfámico, fosfórico y nítrico.

- 5 Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse en forma cristalina o no cristalina, y, si es en forma cristalina, opcionalmente pueden solvatarse, por ejemplo como el hidrato. Esta invención incluye dentro de su alcance solvatos estequiométricos (por ejemplo, hidratos) así como compuestos que contienen cantidades variables de disolvente (por ejemplo, agua).
- 10 Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas estereoisómeras (p.ej., diastereómeros y enantiómeros) y la invención se extiende a cada una de estas formas estereoisómeras y a sus mezclas, incluidos los racematos. Las diferentes formas estereoisómeras se pueden separar entre si por los métodos habituales, o puede obtenerse cualquier isómero dado por síntesis estereoespecífica o asimétrica.
- 15 En los ejemplos donde la composición estereoquímica del producto final ha sido determinada por HPLC quiral (más específicamente por los métodos (A), (B), (C) o (D) como se define en los Ejemplos), el nombre estereoespecífico y la estructura correspondientes han sido asignados al producto final donde el exceso enantiómero de dicho producto es mayor que 70%. La asignación de estereoquímica absoluta se
- 20 basa en la quiralidad conocida del material de partida. En los ejemplos en los que la composición del producto final no se ha caracterizado por HPLC quiral, la estereoquímica del producto final no se ha indicado. No obstante, se esperará que la quiralidad del componente principal de la mezcla de productos refleje aquella del material de partida, y el exceso enantiómero dependerá del método de síntesis
- 25 empleado y probablemente será similar a aquella medida para un ejemplo análogo (si existe dicho ejemplo). Por lo tanto, se espera que los compuestos que se muestran en una forma quiral puedan prepararse en la forma quiral alternativa usando el material de partida adecuado. Alternativamente, si se usan materiales de partida racémicos, se esperaría que se produjera un producto racémico, y los enantiómeros simples podrían
- 30 separarse por los métodos usuales. La invención también se extiende a cualesquier formas tautómeras y sus mezclas.

La invención objeto incluye también compuestos marcados isotópicamente que son idénticos a los enumerados en la fórmula (I) y siguientes, excepto por el hecho de que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica

35 o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa que se encuentra

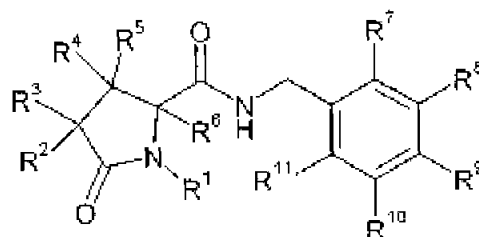
más comúnmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, yodo y cloro, tales como ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I y ^{125}I .

Dentro del alcance de la presente invención se encuentran compuestos de la presente invención y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos que contienen los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos. Los compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo aquellos en los que se incorporan isótopos radioactivos tales como ^3H o ^{14}C , son útiles en ensayos de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Se prefieren particularmente los isótopos tritio, es decir ^3H , y carbono-14, es decir, ^{14}C , por su facilidad de preparación y detectabilidad. Los isótopos de ^{11}C y ^{18}F son particularmente útiles en PET (tomografía de emisión de positrones), y los isótopos ^{125}I son particularmente útiles en SPECT (tomografía computerizada de emisión de un solo fotón). PET y SPECT son útiles en la composición de imágenes cerebrales. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar algunas ventajas terapéuticas que resultan de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación, y por lo tanto en algunos casos pueden ser preferidos. En general, los compuestos marcados con isótopos de fórmula (I) y siguientes de esta invención pueden prepararse realizando los procedimientos descritos en los Esquemas y/o en los Ejemplos presentados más adelante, sustituyendo un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente adquirible.

Además, los compuestos de fórmula (I) pueden administrarse como profármacos. Tal como se emplea en la presente memoria, un "profármaco" de un compuesto de fórmula (I) es un derivado funcional del compuesto que, al ser administrado a un paciente, eventualmente libera el compuesto de fórmula (I) *in vivo*. La administración de un compuesto de fórmula (I) en forma de un profármaco puede permitir al experto en la técnica una o varias de las siguientes cosas: (a) modificar el comienzo de la acción del compuesto *in vivo*; (b) modificar la duración de la acción del compuesto *in vivo*; (c) modificar el transporte o distribución del compuesto *in vivo*; (d) modificar la solubilidad del compuesto *in vivo*; y (e) superar un efecto secundario u otra dificultad encontrada con el compuesto. Los derivados funcionales típicos empleados para preparar profármacos incluyen modificaciones del compuesto que son escindidas químicamente o enzimáticamente *in vivo*. Dichas modificaciones son conocidas por los expertos en la técnica.

md

Preparación de compuestos



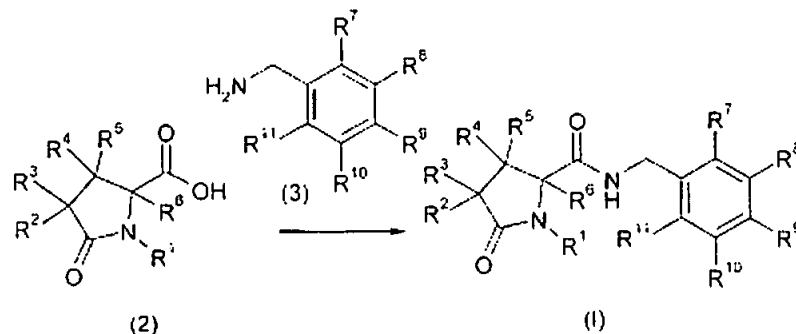
(I)

- 5 Los compuestos de fórmula (I), donde las variables son tal como se definió precedentemente, y sus sales y solvatos, se pueden preparar por la metodología descrita a continuación, que constituye otro aspecto de la presente invención.

Un proceso de acuerdo con la invención para preparar un compuesto de fórmula (I) que comprende:

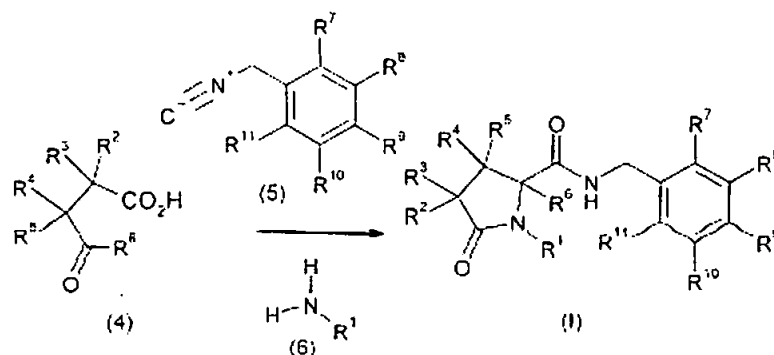
- 10 (a) Acoplar un ácido carboxílico de fórmula (2) (o su derivado activado) con una amina de fórmula (3) (véase Esquema 1), donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} son tal como se definió anteriormente. Los compuestos (2) y (3) están opcionalmente protegidos;
- (b) La reacción de un compuesto dicarbonilo de fórmula (4), un isocianuro de fórmula
- 15 (5) y una amina de fórmula (6) en un disolvente adecuado tal como metanol y a una temperatura adecuada tal como 100°C (véase Esquema 2), donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} y R^{11} son tal como se definió anteriormente, y $R^6 = H$ o metilo. Los compuestos (4), (5) y (6) están opcionalmente protegidos. Los procedimientos de este tipo se describieron previamente en la bibliografía química (p. ej. H.Tye y M.Whittaker,
- 20 *Org.Biomol.Chem.*, 2004, **2**, 813-815; G. C. B. Harriman WO 9900362 A1);
- (c) Desproteger un compuesto de fórmula (I) que esté protegido. Los ejemplos de grupos protectores y los medios para eliminarlos se pueden hallar en T.W. Greene y P.G.M. Wuts 'Protective Groups in Organic Synthesis' (J.Wiley and Sons, 3ª Ed. 1999); o
- 25 (d) Interconversión de los compuestos de fórmula (I) en otros compuestos de fórmula (I). Los ejemplos de procedimientos de interconversión convencionales incluyen epimerización, oxidación, reducción, alquilación, sustitución aromática, sustitución nucleófila, acoplamiento de amidas e hidrólisis de éster.

Esquema 1:



El acoplamiento de un ácido de fórmula (2) y una amina de fórmula (3) típicamente comprende el uso de agentes de activación, como hidrocloreto de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida o carbodiimida soportada por polímero, 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) o 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt), y opcionalmente una base adecuada tal como una alquilamina terciaria (p. ej. diisopropiletilamina, N-etil morfolina, trietilamina) o piridina, en un disolvente adecuado tal como DMF y/o diclorometano y a una temperatura adecuada, p. ej. entre 0°C y temperatura ambiente. Alternativamente, el acoplamiento de (2) y (3) se puede lograr por tratamiento con hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio y una alquilamina terciaria adecuada tal como diisopropiletilamina en un disolvente adecuado tal como dimetilformamida a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente. Alternativamente, el compuesto de fórmula (2) se puede emplear como un derivado activado (p. ej. cloruro de ácido, anhídrido mixto, éster activo (p. ej. O-acil-isourea)), y bajo dichas circunstancias, el procedimiento (a) típicamente comprende tratamiento de dicho derivado activado con una amina (Ogliaruso, M.A.; Wolfe, J.F. en *The Chemistry of Functional Groups* (Ed. Patai, S.) *Suppl.B: The Chemistry of Acid Derivatives*, Pt. 1 (John Wiley and Sons, 1979), pp442-8; Beckwith, A. L. J. en *The Chemistry of Functional Groups* (Ed. Patai, S.) *Suppl. B: The Chemistry of Amides* (Ed. Zabricky, J.)(John Wiley and Sons, 1970), pp 73 ff).

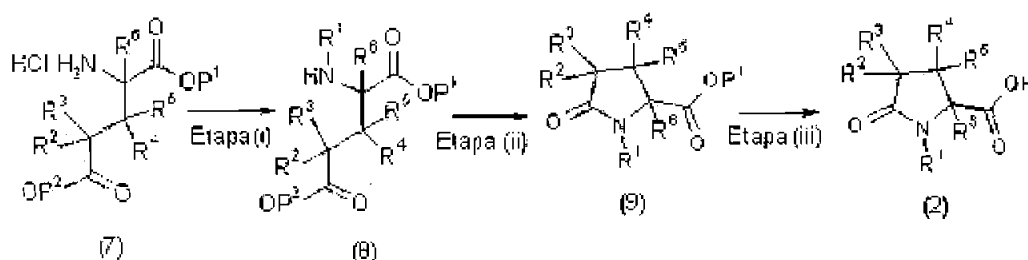
Esquema 2.



(3)

Los métodos representativos para la preparación de los compuestos de fórmula (2) se muestran en los Esquemas 3-9 a continuación:

Esquema 3



donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son tal como se definió anteriormente, $\text{R}^6 = \text{H}$ o F , y P^1 y P^2 representan grupos protectores adecuados tales como alquilo C_{1-6} o P^1 y $\text{P}^2 = \text{H}$.

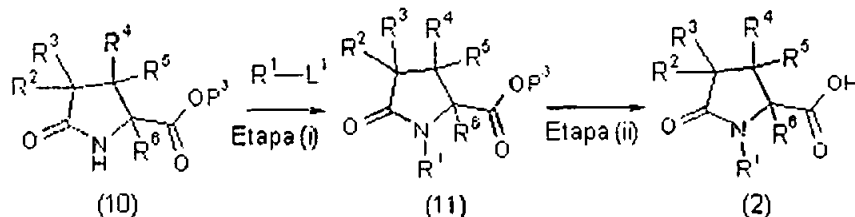
Los procedimientos análogos a aquellos descritos a continuación para las transformaciones señaladas en el esquema 3 han sido previamente descritos en la bibliografía química (p. ej. G. Verardo, P. Geatti, E. Pol, y A.G. Giuraniini, *Can.J.Chem.*, **80**: 779-788 (2002); T. Godet, *et al.*, *Organic Letters*, (2004), 6(19), 3281-3284)

La etapa (i) típicamente comprende el tratamiento inicial de (7) con una base tal como hidróxido de sodio en un disolvente adecuado tal como metanol a una temperatura adecuada tal como 0°C seguida de alquilación reductora que típicamente comprende el tratamiento subsiguiente con un aldehído o cetona y un ácido, tal como ácido acético, y luego la adición de un agente de reducción tal como borohidruro de sodio a una temperatura adecuada entre 0°C y temperatura ambiente.

La etapa (ii) puede ocurrir espontáneamente, en cuyo caso (9) se aísla directamente de la reacción de (7) como se describió anteriormente en la etapa (i), pero más típicamente el compuesto (8) se calienta a una temperatura adecuada, como 110°C , en un disolvente adecuado, como tolueno, para producir el compuesto (9).

La etapa de desprotección (iii) típicamente comprende un procedimiento convencional para conversión de un éster carboxílico en un ácido, como el uso de una sal de hidróxido adecuada (p. ej. hidróxido de sodio) en un disolvente adecuado tal como metanol a una temperatura adecuada entre 0°C y temperatura ambiente.

Esquema 4



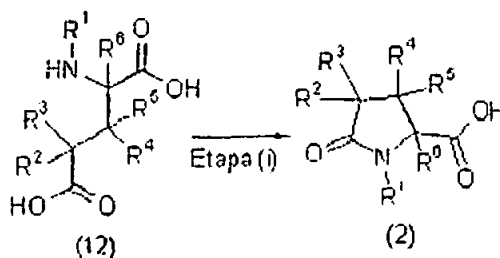
donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son como se definió anteriormente, $R^6 = H$ o F , L^1 es un grupo adecuado tal como halógeno (p. ej. cloro o bromo) o un ácido bórico o éster bórico, y P^3 representa grupos protectores adecuados tales como alquilo C_{1-6} .

Los procedimientos análogos a aquellos descritos a continuación para las transformaciones señaladas en el esquema 4 se han descrito previamente en la bibliografía química (p. ej. T. Itoh, *et.al.*, *Tetrahedron.*, 59 (2003), 3527-3536; T. Simandan y M.B. Smith, *Synthetic Communications*, 26(9), 1827-1838 (1996)).

La etapa (i) típicamente comprende el tratamiento de (10) con una base tal como hidruro de sodio y un agente alquilante como un haluro de alquilo en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano a una temperatura adecuada entre $0^\circ C$ y temperatura ambiente o, alternativamente, puede comprender tratamiento de (10) con un haluro de arilo o arilo o ácido (o éster) alquenil bórico en un disolvente adecuado tal como tolueno en presencia de un catalizador adecuado tal como una mezcla de tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) y Xantphos™ (9,9-dimetil-4,5-bis(difenilfosfino)xanteno) y una base adecuada tal como carbonato de cesio a una temperatura adecuada como $120^\circ C$.

La desprotección (ii) típicamente comprende un procedimiento convencional para conversión de un éster carboxílico en un ácido, como el uso de una sal de hidróxido adecuada (p. ej. hidróxido de sodio) en un disolvente adecuado tal como metanol a una temperatura adecuada entre $0^\circ C$ y temperatura ambiente; o el uso de un ácido adecuado (p. ej. ácido trifluoroacético) en un disolvente adecuado tal como diclorometano a una temperatura adecuada entre $0^\circ C$ y temperatura ambiente.

Esquema 5

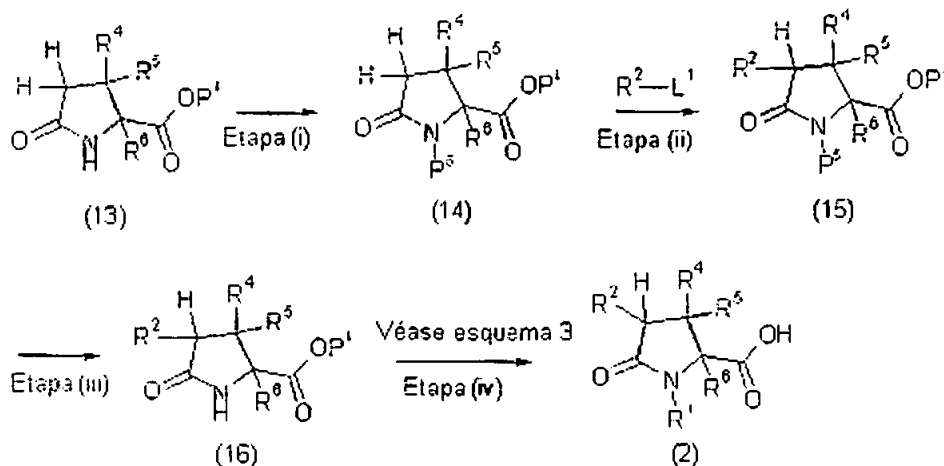


donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son como se definió anteriormente y $R^6 = H$ o F .

Los procedimientos análogos a aquellos descritos a continuación para las transformaciones señaladas en el esquema 5 se han descrito previamente en la bibliografía química (p. ej. S. Aoki, *et.al.*, *Tetrahedron*, 60 (2004) 7053-7059)

- 5 La etapa (i) típicamente comprende calentar (12) en un autoclave o tubo sellado en un disolvente adecuado, como agua, y a una temperatura adecuada entre 100-140°C con o sin irradiación de microondas.

Esquema 6



- 10 donde R^1 , R^4 y R^5 son como se definió anteriormente, R^2 representa un grupo como se definió anteriormente distinto de hidrógeno o halógeno, $R^6 = H$ o F , L^1 es un grupo saliente adecuado tal como halógeno (p. ej. cloro o bromo), y P^4 y P^5 representan grupos protectores adecuados tales como alquilo C_{1-5} y alcóxicarbonilo C_{1-5} respectivamente.

- 15 Los procedimientos análogos a aquellos descritos a continuación para las transformaciones señaladas en el esquema 6 se han descrito previamente en la bibliografía química (p. ej. A. Bassoli, *et.al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 2518-2525)

- 20 La etapa (i) típicamente comprende la protección de (13) por protocolos convencionales tales como tratamiento con un anhídrido de alcóxicarbonilo, como dicarbonato de di-tercbutilo, y una base tal como trietilamina y un catalizador tal como 4-dimetilaminopiridina en un disolvente adecuado tal como diclorometano a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente.

- 25 La etapa (ii) típicamente comprende el tratamiento de (14) con una base tal como bis(trimetilsilil)amida de litio y un agente alquilante tal como un haluro de alquilo en un disolvente adecuado como tetrahidrofurano a una temperatura adecuada entre -

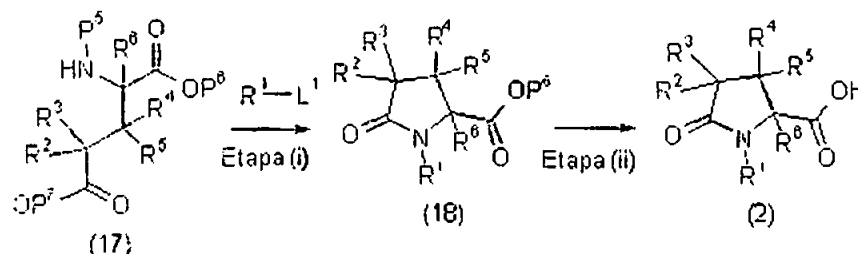
B4

78°C y temperatura ambiente.

La etapa (iii) típicamente comprende la desprotección de (15) por protocolos convencionales tales como, para el caso en que P^5 sea un grupo carbonilo tercbutoxi, tratamiento con cloruro de hidrógeno en un disolvente adecuado tal como dioxano y a una temperatura adecuada como temperatura ambiente.

La etapa (iv) típicamente comprende el procedimiento anteriormente descrito para las etapas que se muestran en el Esquema 4.

Esquema 7

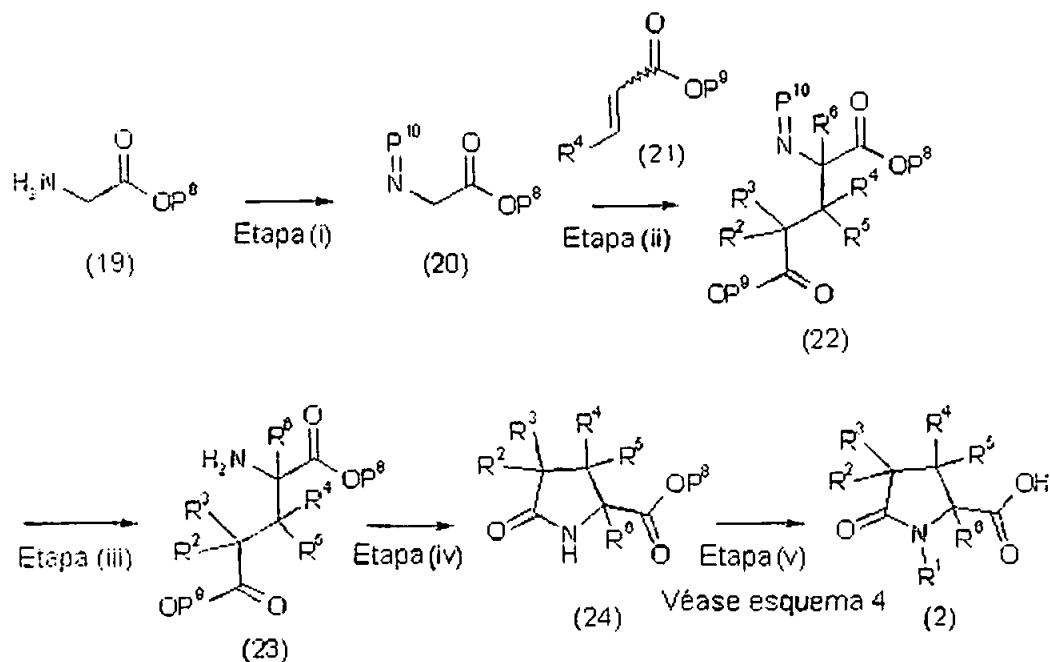


donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son como se definió anteriormente y $R^6 = H$ o F . P^5 , P^6 y P^7 representan grupos protectores adecuados, por ejemplo P^5 puede ser un alcóxicarbonilo C_{1-5} , y P^6 y P^7 pueden ser alquilo C_{1-6} (P^6 y P^7 no necesitan ser iguales). L^1 es un grupo saliente adecuado tal como halógeno (p. ej. cloro o bromo).

La etapa (i) típicamente comprende el tratamiento de (17) con una base adecuada, tal como hexametildisilazida de potasio y un agente alquilante tal como un haluro de alquilo en un disolvente adecuado como tetrahidrofurano a una temperatura adecuada entre -78°C y temperatura ambiente.

La etapa (ii) típicamente comprende un procedimiento convencional para la conversión de un éster carboxílico en un ácido, como tratamiento con un ácido adecuado (p. ej. ácido trifluoroacético) en un disolvente adecuado tal como diclorometano a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente.

Esquema 8



donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son tal como se definió anteriormente y $R^6 = H$ o F . P^8 , P^9 y P^{10} representan grupos protectores adecuados tales como alquilo C_{1-6} en los casos de P^8 y P^9 (P^8 y P^9 no necesitan ser iguales) y un grupo derivado de una cetona acíclica o cíclica adecuada en el caso de P^{10} .

Los procedimientos análogos a aquellos descritos a continuación para las transformaciones señaladas en el esquema 8 se han descrito previamente en la bibliografía química (p. ej. J. Wehbe, *et.al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, 14 (2003), 1123-1126).

La etapa (i) típicamente comprende el tratamiento de (19) con una cetona adecuada, como (1*R*,2*R*,5*R*)-2-hidroxipinan-3-ona, y un ácido de Lewis tal como eterato de trifluoro de boro en un disolvente adecuado tal como tolueno a una temperatura adecuada como 110°C.

La etapa (ii) típicamente comprende el tratamiento de (20) con un reactivo de Grignard, como bromuro de metilmagnesio, y una base, como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno, seguido de tratamiento con un éster insaturado (21), como etil crotonato en un disolvente adecuado como tetrahidrofurano a una temperatura adecuada como -30°C.

La etapa (iii) típicamente comprende un procedimiento convencional para la conversión de una imina a una amina, como tratamiento con un ácido adecuado (p. ej. ácido cítrico al 15%) en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente.

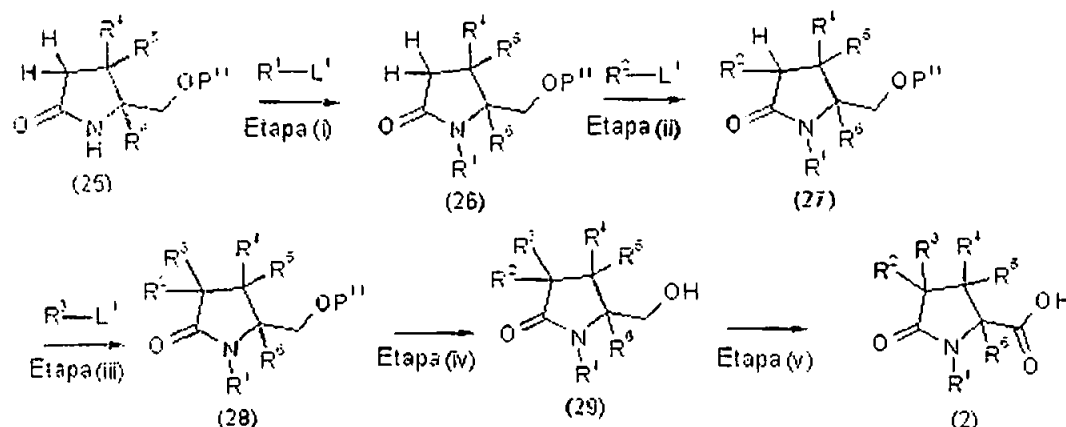
30

La etapa (iv) típicamente comprende calentar (23) en un disolvente adecuado, como tolueno, a una temperatura adecuada entre temperatura ambiente y 120°C.

La etapa (v) típicamente comprende el procedimiento anteriormente descrito para las etapas que se muestran en el Esquema 4.

5

Esquema 9



donde R^1 , R^4 , R^5 y R^6 son tal como se definió anteriormente, R^2 y R^3 representan cada uno un grupo como se definió anteriormente distinto de halógeno, L^1 y L^2 son grupos salientes adecuados tales como halógeno (p. ej. cloro o bromo), y P^{11} representa un grupo protector adecuado tal como tritilo.

10

La etapa (i) típicamente comprende el tratamiento de (25) con una base tal como hidruro de sodio y un agente alquilante tal como un haluro de alquilo en un disolvente adecuado como dimetilformamida a una temperatura adecuada entre 0°C y temperatura ambiente.

15

La etapa (ii) típicamente comprende el tratamiento de (26) con una base tal como diisopropilamida de litio y un agente alquilante tal como un haluro de alquilo en un disolvente adecuado como tetrahidrofurano a una temperatura adecuada entre -78°C y temperatura ambiente.

20

La etapa (iii) típicamente comprende el tratamiento de (27) con una base tal como diisopropilamida de litio y un agente alquilante tal como un haluro de alquilo en un disolvente adecuado como tetrahidrofurano a una temperatura adecuada entre -78°C y temperatura ambiente.

25

La etapa (iv) típicamente comprende un procedimiento convencional para desprotección de un alcohol. Por ejemplo, cuando P^{11} es un grupo tritilo, el tratamiento de (28) con un ácido adecuado tal como Amberlyst 15® en un disolvente adecuado tal como metanol y a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente.



La etapa (v) típicamente comprende un protocolo convencional para oxidación de un alcohol al ácido carboxílico correspondiente, como tratamiento del alcohol (29) con un agente de oxidación tal como una combinación de clorito sódico, TEMPO (radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinilo) y blanqueador (disolución de hipoclorito de sodio) en un disolvente adecuado tal como una mezcla de disolución tampón acuosa monobásica de sodio y acetonitrilo a una temperatura adecuada tal como 40°C.

La etapa (ii) o la etapa (iii) se puede omitir según se requiera para preparar los compuestos en los que $R^2 = H$ o $R^3 = H$ respectivamente.

Los compuestos de las fórmulas generales (3), (4), (5), (6), (7), (10), (12), (13), (17), (19), (21) y (25) típicamente son comercializados por fuentes comerciales o pueden ser preparados por una persona experta en la técnica usando los métodos descritos en la bibliografía química (o usando métodos análogos).

Cuando sea relevante, las sales farmacéuticamente aceptables podrán prepararse convencionalmente por reacción con el ácido o derivado de ácido apropiado.

Indicaciones clínicas

Se cree que como los compuestos de la presente invención modulan la función de los receptores P2X7 y son capaces de antagonizar los efectos de ATP en el receptor P2X7, pueden ser útiles en el tratamiento del dolor, que incluye dolor agudo, dolor crónico, dolor articular crónico, dolor músculo-esquelético, dolor neuropático, dolor inflamatorio, dolor visceral, dolor asociado con cáncer, dolor asociado con migraña, cefalea de tensión y cefaleas histamínicas, dolor asociado con trastornos de la función intestinal, dolor de cuello y espalda, dolor asociado con esguinces y distensiones, síndrome simpático reflejo; miositis, dolor asociado con la gripe o con otras infecciones víricas tales como el resfriado común, dolor asociado con fiebre reumática, dolor asociado con isquemia de miocardio, dolor postoperatorio, dolor por quimioterapia para combatir el cáncer, cefaleas, dolor de muelas y dismenorrea.

Las afecciones de dolor articular crónico incluyen artritis reumatoidea, artrosis, espondilitis reumatoidea, artritis gotosa y artritis juvenil.

El dolor asociado con trastornos funcionales del intestino incluye dispepsia sin úlcera, dolor torácico no cardíaco y síndrome del intestino irritable.

Los síndromes de dolor neuropático incluyen: neuropatía diabética, ciática, lumbalgia inespecífica, neuralgia trigeminal, dolor por esclerosis múltiple, fibromialgia, neuropatía relacionada con el VIH, neuralgia post-herpética, neuralgia trigeminal y

dolor producido por traumatismo físico, amputación, síndrome del miembro fantasma, cirugía espinal, cáncer, toxina o cuadros inflamatorios crónicos. Además, los cuadros de dolor neuropático incluyen el dolor asociado con sensaciones normalmente no dolorosas tales como "hormigueo" (parestesias y disestesias), una mayor sensibilidad al tacto (hiperestesia), sensación dolorosa después de un estímulo inocuo (alodinia dinámica, estática, térmica o al frío), mayor sensibilidad a estímulos nocivos (hiperalgesia térmica, al frío o mecánica), sensación de dolor continuada después de la eliminación del estímulo (hiperpatía), o una ausencia o déficit en la vías sensoriales selectivas (hipoalgesia).

Otros cuadros que podrían ser potencialmente tratados con los compuestos de la presente invención incluyen fiebre, inflamación, enfermedades inmunológicas, enfermedades del funcionamiento plaquetario anormal (p. ej. enfermedades vasculares oclusivas), impotencia o disfunción eréctil; enfermedad ósea caracterizada por metabolismo o resorción ósea anormales; efectos colaterales hemodinámicos de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) e inhibidores de ciclooxigenasa 2 (COX-2), enfermedades cardiovasculares; enfermedades neurodegenerativas y neurodegeneración, neurodegeneración que sigue a un traumatismo, acúfenos, dependencia de un agente inductor de dependencia tal como los opioides (p. ej. morfina), depresores del SNC (p. ej. etanol), psicoestimulantes (p. ej. cocaína) y nicotina; complicaciones de la diabetes tipo I, disfunción renal, disfunción hepática (p. ej. hepatitis, cirrosis), disfunción gastrointestinal (p. ej. diarrea), cáncer de colon, vejiga hiperactiva e incontinencia urinaria. La depresión y el alcoholismo podrían potencialmente tratarse con los compuestos de la presente invención.

La inflamación y los cuadros inflamatorios asociados con dicha inflamación incluyen afecciones de la piel (p. ej. quemaduras solares, quemaduras, eccema, dermatitis, dermatitis alérgica, psoriasis), meningitis, enfermedades oftálmicas tales como glaucoma, retinitis, retinopatías, uveítis y de lesiones agudas en el tejido ocular (p. ej. conjuntivitis), trastornos pulmonares inflamatorios (p. ej. asma, bronquitis, enfisema, rinitis alérgica, síndrome de dificultad respiratorio aguda, neumopatía de los avicultores, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), hiperreactividad de las vías respiratorias); trastornos del tracto gastrointestinal (por ejemplo, úlcera aftosa, enfermedad de Crohn, gastritis atópica, gastritis varioliforme, colitis ulcerosa, enfermedad colíaca, ileitis regional, síndrome del intestino irritable, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de reflujo gastrointestinal); trasplante de órganos y otras afecciones con un componente inflamatorio, tales como enfermedad vascular,

199

migraña, panarteritis nudosa, tiroiditis, anemia aplásica, enfermedad de Hodgkin, esclerodoma, miastenia grave, esclerosis múltiple, sorcoidosis, síndrome nefrótico, síndrome de Bechet, gingivitis, isquemia de miocardio, pirexia, lupus eritematoso sistémico, polimiositis, tendinitis, bursitis y síndrome de Sjogren.

- 5 Las enfermedades inmunológicas incluyen enfermedades autoinmunitarias, enfermedades de deficiencia inmunológica o trasplante de órganos.

- Las enfermedades óseas caracterizadas por metabolismo o resorción ósea anormal incluyen osteoporosis (especialmente osteoporosis posmenopausia), hipercalcemia, hiperparatiroidismo, enfermedades óseas de Paget, osteólisis, 10 hipercalcemia de tumores malignos con o sin metástasis ósea, artritis reumatoidea, periodoncitis, artrosis, ostealgia, osteopenia, caquexia asociada al cáncer, calculosis, litiasis (especialmente urolitiasis), carcinoma sólido, gota y espondiloartritis anquilosante, tendinitis y bursitis.

- Las enfermedades cardiovasculares incluyen hipertensión o isquemia de 15 miocardio; aterosclerosis; insuficiencia venosa funcional u orgánica; tratamiento varicoso; hemorroides y conmociones asociadas con un descenso acusado de la presión arterial (por ej. choque séptico).

- Las enfermedades neurodegenerativas incluyen demencia, particularmente demencia degenerativa (que incluye demencia senil, demencia con cuerpos de Lewy, 20 enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Pick, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y enfermedad de las neuronas motrices); demencia vascular (incluyendo demencia multi-infarto); así como demencia asociada con lesiones que ocupan el espacio intracraneal; traumatismo; infecciones y afecciones relacionadas (que incluyen 25 infección del VIH, meningitis y zóster); metabolismo; toxinas; anoxia y deficiencia de vitaminas; y lesión cognitiva leve asociada con el envejecimiento, particularmente pérdida de memoria asociada con el envejecimiento.

- Los compuestos de fórmula (I) también pueden ser útiles en la neuroprotección y en el tratamiento de la neurodegeneración después de un traumatismo tal como 30 apoplejía, paro cardíaco, bypass pulmonar, lesión traumática cerebral, lesión de la médula espinal o similares.

Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento del desarrollo de células malignas y/o metástasis, y leucemia mioblástica.

- Las complicaciones de la diabetes tipo 1 incluyen microangiopatía diabética, 35 retinopatía diabética, nefropatía diabética, degeneración macular, glaucoma, síndrome

140

nefrótico, anemia aplásica, uveítis, enfermedad de Kawasaki y sarcoidosis.

La disfunción renal incluye nefritis, glomerulonefritis, particularmente glomerulonefritis proliferativa mesangial y síndrome nefrítico.

Se tiene que entender que la referencia al tratamiento incluye tanto tratamiento
5 de síntomas establecidos como tratamiento profiláctico, a menos que se indique explícitamente de otro modo.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, los autores de la invención proporcionan un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en medicina humana o veterinaria.

10 De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee un compuesto de fórmula (I) o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de una afección mediada por los receptores P2X7.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee un método de tratamiento de un individuo humano o animal que padece una afección mediada por
15 los receptores P2X7, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee un método de tratamiento de un individuo humano o animal que padece dolor, inflamación o enfermedad neurodegenerativa, donde el método comprende administrar a dicho
20 individuo una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee un método de tratamiento de un individuo humano o animal que padece dolor inflamatorio, dolor neuropático o dolor visceral, donde el método comprende administrar a dicho individuo
25 una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee un método de tratamiento, por ejemplo de un individuo humano que padece la enfermedad de Alzheimer, donde el método comprende administrar a dicho individuo una cantidad
30 eficaz de un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee el uso de un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección que está mediada por la acción de los receptores P2X7.

35 De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee el uso de un

111

compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de dolor, inflamación o una enfermedad neurodegenerativa.

5 De acuerdo con otro aspecto de la invención, se provee el uso de un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención del dolor inflamatorio, dolor neuropático o dolor visceral.

En un aspecto de la invención, se provee el uso de un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable en la fabricación de un medicamento para el
10 tratamiento o la prevención de la enfermedad de Alzheimer.

Con el fin de usar un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de seres humanos y otros mamíferos, éste normalmente se formula conforme a la práctica farmacéutica convencional en la forma de una composición farmacéutica. Por lo tanto, en otro
15 aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable adaptada para su uso en medicina humana o veterinaria.

Para utilizar los compuestos de fórmula (I) en terapia, normalmente se formularán en una composición farmacéutica de acuerdo con las prácticas
20 farmacéuticas clásicas. La presente invención proporciona además una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Una composición farmacéutica de la invención, que se puede preparar por
25 mezcla, de forma adecuada a temperatura ambiente y a presión atmosférica, normalmente se adapta para administración oral, parenteral o rectal y, para ello, pueden estar en forma de comprimidos, cápsulas, preparaciones líquidas orales, polvos, gránulos, pastillas para chupar, polvos reconstituibles, disoluciones o suspensiones inyectables o infundibles o supositorios. Se prefieren generalmente las
30 composiciones administrables oralmente.

Los comprimidos y cápsulas para administración oral pueden estar en una forma de dosificación individual, y pueden contener excipientes convencionales, tales como agentes aglutinantes, cargas, lubricantes para la formación de comprimidos, disgregantes y agentes humectantes aceptables. Los comprimidos se pueden recubrir
35 según métodos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal.

142

Las preparaciones líquidas orales pueden estar, por ejemplo, en forma de suspensiones, disoluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosos u oleosos, o pueden estar en forma de un producto seco para reconstituirlo con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichos preparados líquidos pueden contener
5 aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden ser incluso aceites comestibles), conservantes, y, si se desea, aromatizantes y colorantes convencionales.

Para administración parenteral, se preparan formas de dosificación unitaria fluidas utilizando un compuesto de la invención o una de sus sales farmacéuticamente
10 aceptables y un vehículo estéril. El compuesto, dependiendo del vehículo y la concentración usados, puede estar suspendido o disuelto en el vehículo. En la preparación de disoluciones, el compuesto puede disolverse para inyección y esterilizarse por filtración antes de cargarlo en un vial o ampolla adecuado y sellarlo. Ventajosamente, en el vehículo se disuelven adyuvantes tales como un anestésico
15 local, conservantes y agentes tamponantes. Para potenciar la estabilidad, la composición puede congelarse después de cargarse en el vial y el agua puede separarse al vacío. Las suspensiones parenterales se preparan esencialmente de la misma manera, excepto que el compuesto se suspende en el vehículo en lugar de disolverse, y la esterilización no puede efectuarse por filtración. El compuesto se
20 puede esterilizar por exposición a óxido de etileno antes de suspenderlo en un vehículo estéril. De forma ventajosa, se incluye un tensioactivo o agente humectante en la composición para facilitar la distribución uniforme del compuesto.

La composición puede contener de 0,1% a 99% en peso, preferiblemente de 10 a 60% en peso, del material activo, dependiendo del método de administración.

25 La dosis del compuesto usada en el tratamiento de los trastornos mencionados anteriormente variará de manera usual con la gravedad de los trastornos, el peso del que los sufre, y otros factores similares. Sin embargo, como regla general, las dosis unitarias adecuadas pueden ser de 0,05 a 1000 mg, más habitualmente de 0,05 a 200 mg, por ejemplo de 20 a 40 mg; y dichas dosis unitarias se administrarán
30 preferiblemente, una vez al día, aunque pueda necesitarse administración más de una vez al día; y dicha terapia puede prolongarse durante varias semanas o varios meses.

Todas las publicaciones, incluidas las patentes y solicitudes de patentes citadas en esta memoria descriptiva, se incorporan por referencia como si se hubiera indicado de forma concreta e individual que cada publicación individual se incorpora como referencia
35 en toda su extensión.

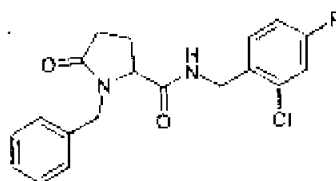
143

Las Descripciones y Ejemplos siguientes ilustran la preparación de los compuestos de la invención pero no tienen como fin limitarla.

Ejemplos:

Los métodos generales (a)-(d), junto con los métodos sintéticos señalados en los Esquemas 1 -9 arriba, para la preparación de los compuestos de la presente invención, se ilustran adicionalmente en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-5-oxo-1-(fenilmetil)-prolinamida (E1)



Se disolvió 5-oxo-1-(fenilmetil)-prolina (0,176 g, 0,80 mmol, preparada según se describe a continuación) en diclorometano (3 ml) y a esto se le añadió 1-hidroxibenzotriazol (0,119 g, 0,88 mmol), trietilamina (0,113 ml, 0,81 mmol), [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,134 g, 0,84 mmol) e hidrocloruro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*'-etilcarbodiimida (0,169 g, 0,88 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se diluyó con diclorometano y se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa orgánica se filtró a través de un separador de fases y luego se evaporó para proveer el producto bruto. El material bruto se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-5-oxo-1-(fenilmetil)-prolinamida pura (0,112 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+ = 361,2$, tiempo de retención = 2,55 minutos.

La 5-oxo-1-(fenilmetil)-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

(i) Se disolvió hidrocloruro de dimetil L-glutamato (0,500 g, 2,37 mmol) en metanol (10 ml) y se enfrió hasta 0°C. La mezcla se trató luego con hidróxido de sodio (0,099 g, 2,49 mmol) seguida de ácido acético (0,136 ml, 2,37 mmol) y benzaldehído (0,361 ml, 3,55 mmol). Después de agitar durante 10 minutos a 0°C, se añadió borohidruro de sodio (0,088 g, 2,37 mmol) y la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La mezcla se enfrió nuevamente hasta 0°C y se trató con una cantidad adicional de borohidruro de sodio (0,044 g, 1,18 mmol). La mezcla se dejó calentar nuevamente a temperatura ambiente, y se agitó durante la noche. La evaporación del metanol produjo un residuo que se absorbió en acetato de etilo y se

1494

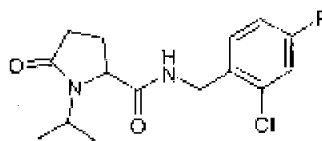
filtró. El filtrado se lavó luego con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso, se filtró a través de un separador de fases (agitando) y se evaporó para producir un aceite claro (0,56 g). El aceite se disolvió en metanol y se calentó en un tubo sellado en un reactor de microondas a 120°C durante 10 minutos y luego durante 15 minutos a 140°C (La LC/MS indicó que esta fase de calentamiento no había alterado la composición de la mezcla significativamente). El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente 15-20% de acetato de etilo en hexano, para proveer metil 5-oxo-1-(fenilmetil)-prolinato puro (0,212 g) como un aceite claro.

LC/MS $[M+H]^+ = 234$, tiempo de retención = 2,15 minutos.

(ii) Se disolvió metil 5-oxo-1-(fenilmetil)-prolinato (0,212 g, 0,91 mmol) en agua (3 ml) y metanol (0,5 ml) y se trató con hidróxido sódico acuoso 2M (0,682 ml, 1,36 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se lavó con diclorometano. La capa acuosa se evaporó y el residuo se trató con un exceso de cloruro de hidrógeno 1M en éter (~5 ml). La mezcla se evaporó una vez más y el residuo se trituró con diclorometano. El material sólido se desechó y las fracciones de diclorometano combinadas se evaporaron para producir 5-oxo-1-(fenilmetil)-prolina (0,182 g) como un aceite amarillo que se utilizó sin purificación adicional.

LC/MS $[M+H]^+ = 220$, tiempo de retención = 1,72 minutos.

Ejemplo 2 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxo-prolinamida (**E2**)



Se disolvió 1-(1-metiletil)-5-oxo-prolina (0,060 g, 0,35 mmol, preparada como se describe a continuación) en diclorometano (3 ml) y dimetilformamida (1 ml), y a esto se añadió 1-hidroxibenzotriazol (0,052 g, 0,39 mmol), [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,061 g, 0,39 mmol) e hidroccloruro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,074 g, 0,39 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se diluyó con diclorometano y se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa orgánica se filtró a través de un separador de fases y luego se evaporó para proveer el producto bruto. El material bruto se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxo-prolinamida pura (0,032 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+ = 313,1$,

145

tiempo de retención = 2,26 minutos.

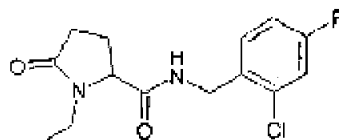
La 1-(1-metiletil)-5-oxo-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

(i) Se disolvió hidrocloreto de dimetil L-glutamato (0,500 g, 2,37 mmol) en metanol (4 ml) y tetrahidrofurano (8 ml), y la mezcla se trató luego con hidróxido de sodio triturado (0,099 g, 2,49 mmol) durante 10 minutos. En esta etapa se añadieron ácido acético (0,136 ml, 2,37 mmol) y acetona (0,261 ml, 3,55 mmol) juntos a la mezcla como una disolución en tetrahidrofurano (1 ml). Después de agitar durante 10 minutos, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se trató con pelets de borohidruro de sodio (0,088 g, 2,37 mmol). La mezcla se dejó calentar nuevamente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La evaporación del metanol produjo un residuo que se absorbió en acetato de etilo y se filtró. El filtrado se lavó luego con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso, se filtró a través de un separador de fases (agitando) y se evaporó para producir un aceite claro (0,217 g). El aceite se purificó por cromatografía en columna rápida de sílice para proveer dimetil *N*-(1-metiletil)-glutamato puro (0,200 g).

(ii) Se disolvió dimetil *N*-(1-metiletil)-glutamato (0,200 g) en metanol y se calentó en un tubo sellado en un reactor de microondas a 140°C durante 20 minutos. La cromatografía en capa fina indicó que el material de partida permaneció intacto, de modo que el disolvente se evaporó y reemplazó con tolueno. La mezcla se calentó a temperatura de reflujo durante ~3 horas y luego se evaporó para producir metil 1-(1-metiletil)-5-oxo-prolinato (0,152 g) como un aceite amarillo ligero que se utilizó en la etapa subsiguiente sin más purificación.

(iii) Se disolvió metil 1-(1-metiletil)-5-oxo-prolinato (0,152 g, 0,82 mmol) en agua (3 ml) y metanol (0,5 ml) y se trató con hidróxido de sodio acuoso 2M (0,682 ml, 1,36 mmol). La mezcla se agitó durante ~4 h a temperatura ambiente y luego se lavó con diclorometano. La capa acuosa se evaporó y el residuo se trató con un exceso de cloruro de hidrógeno 1M en éter (~5 ml). La mezcla se evaporó una vez más y el residuo se trituró con diclorometano. El material sólido se desechó y las fracciones de diclorometano combinadas se evaporaron para producir 1-(1-metiletil)-5-oxo-prolina (0,060 g) como un aceite amarillo que se cristalizó en reposo.

Ejemplo 3 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida (E3)



146

Se disolvió metil-1-etil-5-oxo-prolinato (0,135 g, 0,79 mmol, preparado como se describe a continuación) en metanol (4 ml) y se trató con hidróxido de sodio acuoso 2M (0,592 ml, 1,18 mmol). La mezcla se agitó durante ~4 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó para proveer un residuo que se trató luego con un exceso de cloruro de hidrógeno 1M en éter (~5 ml) durante 10 minutos. La mezcla se evaporó una vez más y el residuo se disolvió en diclorometano (4 ml) y dimetilformamida (2 ml) y se filtró para eliminar sólidos. La disolución resultante se transfirió a un tubo de reacción y se añadieron luego 1-hidroxibenzotriazol (0,117 g, 0,87 mmol), [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,138 g, 0,87 mmol) e hidroccloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,167 g, 0,87 mmol). La mezcla se lavó con argón y luego se agitó a temperatura ambiente durante un fin de semana. La mezcla se diluyó luego con diclorometano y se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa orgánica se filtró a través de un separador de fases y luego se evaporó para proveer el producto bruto. El material bruto se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer N-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida pura (0,086 g) como un sólido blanco. LC/MS [M+H]⁺ = 299,1, tiempo de retención = 2,13 minutos.

Exceso enantiomérico = 100,0%, según lo determinado por cromatografía quiral, método B, indicativo de N-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-L-prolinamida tiempo de retención = 8,05 minutos

El metil-1-etil-5-oxo-prolinato utilizado en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

(i) Se disolvió hidroccloruro de dimetil L-glutamato (0,500 g, 2,37 mmol) en metanol (4 ml) y tetrahidrofurano (8 ml), y la mezcla se trató luego con hidróxido de sodio triturado (0,099 g, 2,49 mmol) durante 10 minutos. En esta etapa se añadieron ácido acético (0,136 ml, 2,37 mmol) y acetaldehído (0,199 ml, 3,55 mmol) juntos a la mezcla como una disolución en tetrahidrofurano (1 ml). Después de agitar durante 10 minutos, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se trató con pelets de borohidruro de sodio (0,088 g, 2,37 mmol). La mezcla se dejó luego calentar hasta temperatura ambiente. Una vez que la mezcla había alcanzado temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (30 ml) y se lavó con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso, se filtró a través de un separador de fases (agitando) y se evaporó para producir un residuo oleoso. El aceite se disolvió en tolueno y se calentó a reflujo durante 4 h. Para asegurar la reacción completa, la mezcla se calentó luego durante toda la noche a

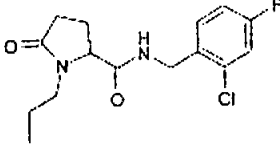
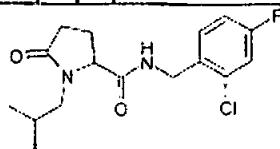
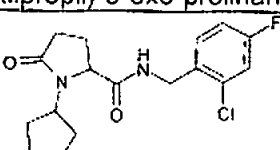
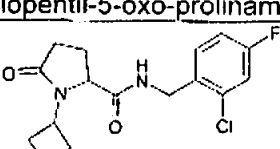
148

reflujo. El disolvente se evaporó luego y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 30-50% acetato de etilo en hexano, para proveer metil 1-etil-5-oxo-prolinato bruto (0,135 g) como un aceite claro que se utilizó sin más purificación.

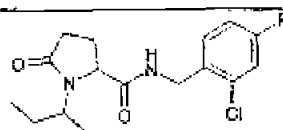
5 Ejemplos 4-8

En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 3 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 1) se prepararon sustituyendo el acetaldehído usado en el procedimiento anterior por el aldehído (o cetona) adecuado. Todos los aldehídos y cetonas utilizados para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 1 son comercializados por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química.

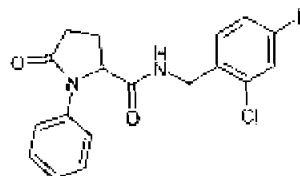
Tabla 1

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E4	 <i>N</i> -[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-5-oxo-1-propil-prolinamida	313,1	2,30
E5	 <i>N</i> -[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-(2-metilpropil)-5-oxo-prolinamida	327,1	2,46
E6	 <i>N</i> -[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-ciclopentil-5-oxo-prolinamida	339,1	2,47
E7	 <i>N</i> -[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-ciclobutil-5-oxo-prolinamida	325	2,37

148

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E8	 <i>N</i> -[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-(1-metilpropil)-5-oxoprolinamida	327	2,43

Ejemplo 9 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-5-oxo-1-fenil-prolinamida (E9)



5 Se disolvió 5-oxo-1-fenil-prolina (0,047 g, 0,23 mmol, preparada como se describe a continuación) en diclorometano (~2 ml) y dimetilformamida (1 ml), y a esto se le añadieron 1-hidroxibenzotriazol (0,034 g, 0,25 mmol), [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,040 g, 0,25 mmol), *N*-etil morfolina (0,032 ml, 0,25 mmol) e hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,048 g, 0,25 mmol). La
10 mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4,5 h. La mezcla se diluyó con más diclorometano y se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa orgánica se filtró a través de un separador de fases y luego se evaporó para proveer el producto bruto. El material bruto se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-5-oxo-1-oxo-prolinamida pura (0,032 g) como un sólido blanco. LC/MS
15 [M+H]⁺ = 347,1, tiempo de retención = 2,51 minutos.

La 5-oxo-1-fenil-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

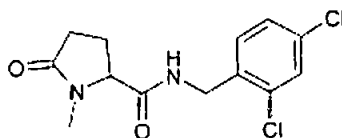
(i) Se disolvió metil 5-oxo-L-prolinato (0,204 ml, 1,75 mmol) en tolueno (5 ml) y se trató con tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (0,024 g, 0,03 mmol), bromobenceno
20 (0,184 ml, 1,75 mmol), carbonato de cesio (0,795 g, 2,45 mmol) y Xantphos™ (0,040 g, 0,07 mmol). La mezcla resultante se calentó a 120°C durante ~18 h y luego se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso y salmuera. La filtración a través de un separador de fases, seguida
25 de evaporación, produjo un aceite amarillo/marrón (~ 0,200 g). El material bruto se

149

purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer metil 5-oxo-1-fenilprolinato puro (0,054 g) como un aceite que se cristalizó en reposo. LC/MS $[M+H]^+ = 220$, tiempo de retención = 2,03 minutos.

- (ii) Se combinó metil 5-oxo-1-fenilprolinato (0,054 g, 0,25 mmol) con hidróxido
 5 sódico acuoso 2M (0,160 ml, 0,32 mmol) en metanol (1 ml) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó luego y el residuo se absorbió en acetato de etilo y se lavó con cloruro de hidrógeno acuoso 2M. La capa acuosa se separó y se lavó dos veces más con acetato de etilo y luego las capas combinadas de acetato de etilo se secaron usando un separador de fases y se evaporaron para
 10 proveer 5-oxo-1-fenil-prolina (0,047 g) como un aceite claro.

Ejemplo 10 N-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-prolinamida (E10)



- Se disolvió 1-metil-5-oxo-prolina (0,057 g, 0,4 mmol, preparada como se
 15 describe a continuación) en diclorometano anhidro (6 ml), y a esto se le añadieron 1-hidroxibenzotriazol (0,060 g, 0,4 mmol), [(2,4-dicloro-fenil)metil]amina (0,055 ml, 0,4 mmol), diisopropilamina (0,140 ml, 0,8 mmol) y hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (0,152 g, 0,4 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente (20°C) en argón durante 3 horas y después durante una
 20 noche. La mezcla se diluyó con más diclorometano (25 ml) y se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M (20 ml), carbonato de hidrógeno sódico acuoso (20 ml), carbonato de sodio al 10% (20 ml) y salmuera (20 ml). La capa orgánica se filtró a través de una frita hidrófoba y luego se evaporó para proveer el producto bruto. El material bruto se disolvió en una mezcla de dimetilsulfóxido (0,9 ml) y acetonitrilo
 25 (0,9 ml) y luego se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer N-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-prolinamida pura (0,085 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+ = 301$, tiempo de retención = 2,16 minutos.

La 1-metil-5-oxo-5-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

- (i) Se disolvió ácido N-metil-L-glutámico (0,500 g, 3,1 mmol) en agua (1 ml) y
 30 se calentó en un tubo sellado a 140°C por 30 minutos en un reactor de microondas. El agua luego se evaporó y el residuo se trituró con éter para proveer, después del secado, 1-metil-5-oxo-prolina (0,298 g) como un sólido blanco.

150

La *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-prolinamida también se puede preparar como se describe a continuación:

Se suspendió 1-metil-5-oxo-prolina (36,79 g, 0,257 moles, preparada como se describió anteriormente) en DCM (diclorometano) (500 ml). Se añadió EEDQ (2-Etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, 66,7 g, 0,27 moles, 1,05 eq) en una porción. Todo el material pareció disolverse para producir una mezcla opaca y la temperatura cayó de 21°C a 10°C. Esto se agitó durante 20 minutos bajo argón y luego se añadió una disolución de 2,4-diclorobencilamina (36 ml, 0,27 moles, 1,05 eq) en DCM (100ml) gota a gota durante un período de 40 minutos. Durante la adición, se formó un precipitado blanco en el embudo de llenado. La mezcla se burbujeó moderadamente y se usó un baño de hielo/agua para mantener la temperatura entre 15-20°C. Tras completar la adición de amina, el embudo de llenado se enjuagó con más DCM (50 ml) para enjuagar todo el precipitado en la mezcla de reacción. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante aprox 18 horas. Se añadió carbonato de hidrógeno sódico acuoso (200 ml) a la mezcla y se agitó durante 5 minutos. La capa orgánica se separó luego y se lavó con HCl 2 N (3 x 250 ml). Durante los lavados ácidos, se comenzaron a formar cristales en la capa orgánica, de modo que esto se diluyó con más DCM (200 ml). La capa orgánica se secó pasando a través de una frita hidrófoba y luego se concentró al vacío para proveer 65 g de sólidos rosados. Los sólidos habían formados grandes grumos de modo que el material bruto se trituró en un triturador con mortero. Éstos se trituraron luego con éter dietílico (400 ml) y los sólidos se filtraron y lavaron con más Et₂O (2 x 200 ml). El secado produjo luego 52,96 g de sólidos rosados pálidos. Este material se combinó con otras 2 partidas, preparadas del mismo modo, (141,42 g total) y luego se suspendió en etanol (430 ml) y agua (715 ml) y se calentó gradualmente hasta 65°C (temperatura de disolución). La mezcla produjo una disolución prácticamente transparente (rosada oscura), excepto por una suspensión sólida muy fina. Después de calentar a 65°C durante 20 minutos, se eliminó el matraz del calor y se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante una noche. Después de ese tiempo, se precipitaron agujas blancas de la disolución. La mezcla se enfrió en un baño de hielo durante 20 minutos para asegurar que se hubiesen precipitado todos los sólidos. Los sólidos blancos se filtraron de la disolución rosada y se lavaron con porciones de 3:5 EtOH/H₂O (2 x 400ml), que se habían enfriado en un baño de hielo. Los sólidos se secaron en un horno de vacío (40°C) por un total de 5 días para proporcionar *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-prolinamida pura (125,37 g) como cristales incoloros.

151

LC/MS $[M+H]^+ = 301$, tiempo de retención = 2,34 minutos.

^1H RMN ($CDCl_3$, 500MHz) δ 2,01 (m, 1H), 2,34 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,46 (m, 1H), 2,80 (s, 3H), 3,99 (dd, 1H, $J = 9,1, 4,2$ Hz), 4,49 (dd, 1H, $J = 14,9, 5,9$ Hz), 4,55 (dd, 1H, $J = 14,8, 6,1$ Hz), 6,56 (t ancho, 1H, $J = 5,7$ Hz), 7,24 (dd, 1H, $J = 8,2, 2,1$ Hz), 7,33 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,40 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz); ^{13}C RMN δ 175,9, 171,3, 134,5, 134,3, 133,7, 131,5, 129,6, 127,5, 63,8, 41,2, 29,4, 29,2, 23,4.

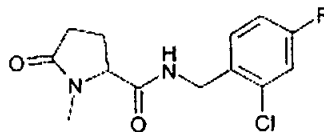
Exceso enantiomérico = 99,5%, según lo determinado por cromatografía quiral, método A, indicativo de *N*-[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-metil-5-oxo-L-prolinamida

10 tiempo de retención = 9,89 minutos

$[\alpha]_D = -2,1^\circ$ ($c=1$, MeOH), Temperatura = 29,3°C, longitud de onda = 589nm

punto de fusión = 144,0-144,8°C

Ejemplo 11 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-prolinamida (E11)



15 Se disolvió 1-metil-5-oxo-prolina (0,050 g, 0,35 mmol, preparada como se describe a continuación) en diclorometano anhidro (~7 ml), y a esto se le añadieron 1-hidroxibenzotriazol (0,047 g, 0,42 mmol), [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,056 ml, 0,42 mmol), *N*-etil morfolina (0,166 ml, 1,04 mmol) e hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,067 g, 0,42 mmol). Se agitó la mezcla a
20 temperatura ambiente durante una noche. Se añadió otra parte alícuota de [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,100 ml, 0,8 mmol) a la mezcla y se siguió agitando un momento más, pero la HPLC indicó que no se estaba formando más producto. La mezcla se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M (5 ml) y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (5 ml). La capa orgánica se recogió y evaporó
25 para dar el producto en bruto. El material bruto se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-prolinamida pura (0,015 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+ = 285$, tiempo de retención = 2,04 minutos.

30 La 1-metil-5-oxo-5-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

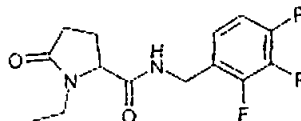
(i) Se disolvió/mezcló éster metílico del ácido (*L*)-piroglutámico (1 g, 6,99 mmol) con tetrahidrofurano (10 ml) y se enfrió hasta 0°C usando un baño de hielo. Se añadió hidruro de sodio (0,201 g de una suspensión al 60% en aceite, 8,38 mmol) a la mezcla.

152

Después de dejar de burbujear, se añadió yoduro de metilo (0,522 ml, 8,38 mmol) y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se evaporó el disolvente y se añadió agua (1 ml). La capa acuosa se extrajo luego con diclorometano. La evaporación del diclorometano produjo metil 1-metil-5-oxo-prolinato (0,308 g) bruto que se usó en la etapa siguiente sin más purificación.

(ii) Se disolvió metil 1-metil-5-oxo-prolinato (0,308 g, 1,96 mmol) en metanol (~10 ml) y a esto se le añadió una disolución de hidróxido sódico (0,157 g, 3,92 mmol) en agua (~10 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas, luego se enfrió y evaporó para dejar una cantidad mínima de agua. Esto se acidificó hasta pH 1 usando cloruro de hidrógeno acuoso 2M. La capa acuosa se lavó con diclorometano y luego se separó para dar 1-metil-5-oxo-prolina (0,300 g) como un sólido blanco.

Ejemplo 12 1-etil-5-oxo-N-[(2,3,4-trifluorofenil)metil]-prolinamida (E12)



Se disolvió 1-etil-5-oxo-prolina (0,050 g, 0,32 mmol) en diclorometano anhidro (~7 ml) y dimetilformamida (1 ml), y a esto se le añadió 1-hidroxibenzotriazol (0,052 g, 0,38 mmol), [(2,3,4-trifluorofenil)metil]amina (0,103 g, 0,64 mmol), N-etil morfolina (0,151 ml, 0,95 mmol) e hidrocloreto de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,073 g, 0,38 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante un fin de semana. Se añadió otra parte alícuota de [(2,3,4-trifluorofenil)metil]amina (0,051 ml, 0,32 mmol) a la mezcla y se siguió agitando un momento más hasta que la HPLC indicó que no se estaba formando más producto. La mezcla se diluyó con cloruro de hidrógeno acuoso 2M (5 ml) y luego se filtró a través de un separador de fases. La capa orgánica se lavó luego con carbonato de hidrógeno saturado acuoso y otra vez se filtró a través de un separador de fases. La capa orgánica se evaporó luego para dar el producto en bruto. El material bruto se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer 1-etil-5-oxo-N-[(2,3,4-trifluorofenil)metil]-prolinamida pura (0,032 g).

LC/MS $[M+H]^+ = 301$, tiempo de retención = 2,03 minutos.

La 1-etil-5-oxo-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera (Método A):

(i) Se disolvió hidrocloreto de dimetil L-glutamato (5,0 g, 23,7 mmol) en metanol (100 ml) y la mezcla se trató luego con hidróxido sódico molido (1,0 g, 24,9 mmol) bajo argón a temperatura ambiente. Después de 5 minutos, se añadió acetaldehído (1,99

153

ml, 35,5 mmol) y se siguió agitando durante 10 minutos. La mezcla se enfrió hasta 0°C y se trató con gránulos de borohidruro de sodio (0,701 g, 18,95 mmol). Se siguió agitando durante 1 h a 0°C y luego se evaporó el metanol y el residuo se absorbió en acetato de etilo y se filtró. El filtrado se lavó con salmuera y el lavado con salmuera se extrajo con acetato de etilo. Las fracciones de acetato de etilo combinadas se filtraron a través de una frita hidrófoba y se evaporaron para producir un aceite claro (3,2 g). El aceite se disolvió en tolueno (30 ml) y se calentó a reflujo durante una noche. El tolueno luego se evaporó para proveer un residuo anaranjado liviano que se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 20-60% acetato de etilo en hexano, para proveer metil 1-etil-5-oxo-prolinato parcialmente bruto (1,9 g) como un aceite claro. Esto se utilizó en la siguiente etapa sin mayor purificación.

(ii) Se disolvió metil 1-etil-5-oxo-prolinato (1,91 g, 11,17 mmol) en metanol (25 ml) y se trató con hidróxido de sodio acuoso 2M (7,3 ml, 14,52 mmol). La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente y luego se lavó con diclorometano. La capa acuosa se evaporó y el residuo se trató con un exceso de cloruro de hidrógeno 1M en éter (~5 ml). La mezcla se evaporó una vez más y el residuo se trituró con diclorometano. El material sólido se desechó y las fracciones de diclorometano combinadas se evaporaron para dar un aceite claro que se cristalizó en reposo. La trituración con hexano y éter, y el secado produjeron 1-etil-5-oxo-prolina pura (0,271 g) como un sólido blanco.

Alternativamente, se puede preparar 1-etil-5-oxo-prolina de la siguiente manera (Método B):

(i) Se añadió 1,1-dimetiletil 5-oxo-L-prolinato (2,7 g, 12 mmol, preparado como se describe en *Synth. Comm.*, 2005, 35(8), 1129) a una suspensión de hidruro de sodio (0,428 g (suspensión al 60% en aceite), 10,7 mmol) en tetrahidrofurano (6 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadió luego yoduro de etilo (1,67 g, 10,7 mmol) y la mezcla se calentó a 40°C durante 2 horas. Se añadió otra cantidad de hidruro de sodio (0,24 g) y se siguió agitando durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió una cantidad adicional de yoduro de etilo (0,86 ml) a la mezcla en esta etapa, y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante un fin de semana. Se añadió agua (~10 ml) a la mezcla y se agitó durante 15 minutos. El tetrahidrofurano se evaporó y la capa acuosa restante se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml) y una mezcla 3:1 de cloroformo e isopropanol (50 ml). Las capas orgánicas combinadas se filtraron a través de una frita hidrófoba y se evaporaron para proveer

un aceite amarillo. Se añadió tolueno a la mezcla y luego se evaporó para proveer un aceite amarillo una vez más. Este material se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 15-100% de acetato de etilo en hexano, para dar 1,1-dimetiletil 1-etil-5-oxo-prolinato puro.

5 (ii) Se disolvió 1,1-dimetiletil 1-etil-5-oxo-prolinato (0,965 g) en diclorometano (~5 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h y después se evaporó. El material resultante era en su mayor parte material de partida, de modo que se añadió una cantidad adicional de ácido trifluoroacético (1 ml) y diclorometano (~5 ml), y la mezcla se agitó a temperatura
10 ambiente durante 36 horas. La mezcla se evaporó y luego se añadió tolueno al residuo, y éste a su vez también se evaporó. Después de repetir este procedimiento una vez más, se obtuvo 1-etil-5-oxo-prolina bruta como un aceite amarillo oscuro que se utilizó sin purificación adicional.

Alternativamente, se puede preparar 1-etil-5-oxo-prolina de la siguiente manera
15 (Método C):

(i) Se disolvió hidrocloreto de 1-(1,1-dimetiletil) 5-metil-L-glutamato (5,0 g, 19,71 mmol) en una mezcla de metanol (30 ml) y tetrahidrofurano (60 ml), y la mezcla se trató luego con hidróxido de sodio triturado en polvo (0,828 g, 20,69 mmol) en argón a temperatura ambiente. Después de agitar durante 10 minutos, se añadieron
20 acetaldehído (1,11 ml, 19,71 mmol) y ácido acético (1,13 ml, 19,71 mmol) y se continuó la agitación durante 10-15 minutos. La mezcla se enfrió nuevamente hasta 0°C en un baño de hielo y se trató con pelets de borohidruro de sodio (0,746 g, 19,71 mmol). Se siguió agitando durante ~1 h a 0°C en argón. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente para producir una suspensión espesa. Se filtraron sólidos
25 blancos finos y luego se evaporó el metanol y el residuo se absorbió en diclorometano (~50 ml) y se lavó con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (25 ml). La capa orgánica se separó usando un separador de fases y luego la capa acuosa se retroextrajo con más diclorometano (2 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se evaporaron para dar un aceite incoloro (~4 g). El aceite (3 g, aproximadamente 14,8
30 mmol) se disolvió en tolueno (30 ml) y se calentó a reflujo por ~16 horas durante una noche para dar una disolución anaranjada. El tolueno luego se evaporó hasta producir un aceite anaranjado (2,6 g). Esto se combinó con otra partida de aceite (0,850 g) que se obtuvo del mismo modo y luego se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 20-80%
35 acetato de etilo en hexano, para proveer 1,1-dimetiletil 1-etil-5-oxoprolinato puro (2,14



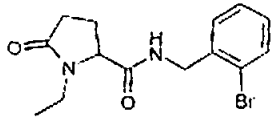
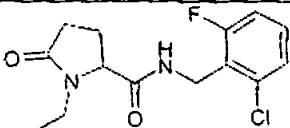
g).

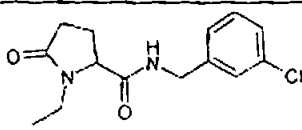
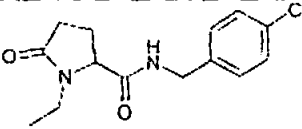
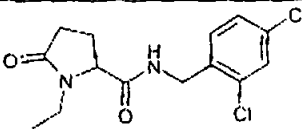
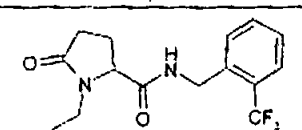
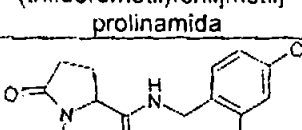
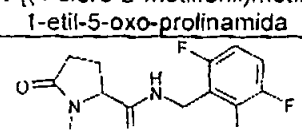
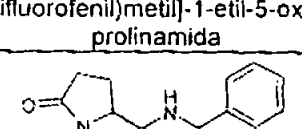
(ii) Se disolvió 1,1-dimetiletil 1-etil-5-oxoprolinato (0,933 g) en diclorometano (~5 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla se agitó durante 3 h a temperatura ambiente y luego se evaporó. El residuo se absorbió en tolueno y se evaporó una vez más. Esto proporcionó 1-etil-5-oxo-prolina parcialmente pura (>95%) como un aceite anaranjado/amarillo (0,914 g) que se utilizó sin más purificación.

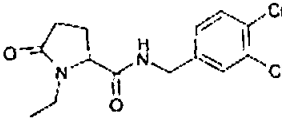
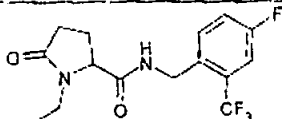
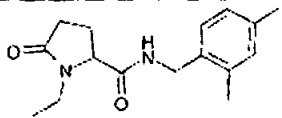
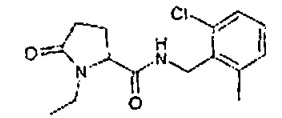
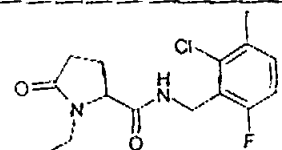
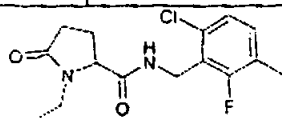
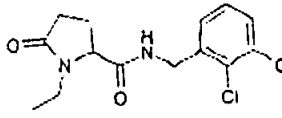
Ejemplos 13-36

En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 12 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 2) se prepararon sustituyendo la [(2,3,4-trifluorofenil)metil]amina usada en el procedimiento anterior por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 2 son comercializados por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química o métodos análogos a éstas. La 1-etil-5-oxo-prolina empleada en la reacción se preparó, en cada caso, por el método indicado. Cuando se determina (por HPLC quiral), el exceso enantiómero (e.e.) del isómero que se muestra también se menciona con su nombre estereoespecífico, el método de separación quiral utilizado entre paréntesis y el tiempo de retención (r.t.) correspondiente en ese método.

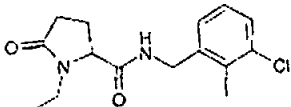
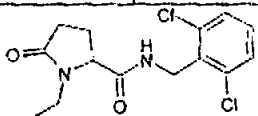
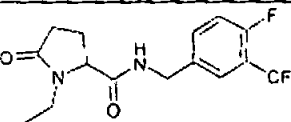
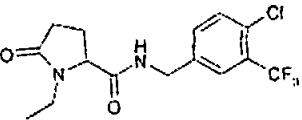
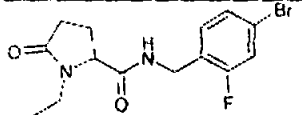
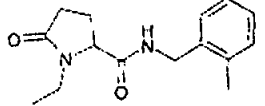
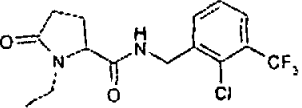
20 Tabla 2

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)	Método utilizado para preparar 1-etil-5-oxo-prolina	e.e.
E13	 <i>N</i> -[(2-bromofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	327	2,04	A	
E14	 <i>N</i> -[(2-cloro-6-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	299	2,03	A	

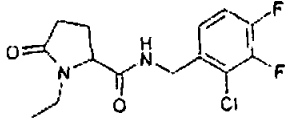
Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)	Método utilizado para preparar 1-etil-5-oxo-prolina	e.e.
E15	 <i>N</i> -[(3-clorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	281	2,13	A	
E16	 <i>N</i> -[(4-clorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	281	2,07	A	
E17	 <i>N</i> -[(2,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	315	2,39	A	96,9 % (c) <i>N</i> -[(2,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-L-prolinamida r.t.=8,78min
E18	 1-etil-5-oxo- <i>N</i> -[(2-(trifluorometil)fenil)metil]-prolinamida	315	2,29	B	
E19	 <i>N</i> -[(4-cloro-2-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	295	2,37	B	
E20	 <i>N</i> -[(2-cloro-3,6-difluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	317	2,15	B	
E21	 <i>N</i> -[(2-clorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	281	2,10	B	

Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)	Método utilizado para preparar 1-etil-5-oxo-prolina	e.e.
E22	 <chem>CCN(CC)C(=O)NCc1cc(Cl)c(Cl)cc1</chem> <i>N</i> -[(3,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	315	2,36	B	82,8 % (c) <i>N</i> -[(3,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-L-prolinamida r.t.=5,37 min
E23	 <chem>CCN(CC)C(=O)NCc1cc(F)c(C(F)(F)F)cc1</chem> 1-etil- <i>N</i> -[[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metil]-5-oxo-prolinamida	333	2,33	B	
E24	 <chem>CCN(CC)C(=O)NCc1cc(C)cc(C)c1</chem> <i>N</i> -[(2,4-dimetilfenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	275	2,24	B	
E25	 <chem>CCN(CC)C(=O)NCc1cc(Cl)ccc(C)c1</chem> <i>N</i> -[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	295	2,28	B	79,0 % (c) <i>N</i> -[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxo-L-prolinamida r.t.=6,91 min
E26	 <chem>CCN(CC)C(=O)NCc1cc(Cl)c(F)c(C)c1</chem> <i>N</i> -[(2-cloro-6-fluoro-3-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	313	2,31	B	
E27	 <chem>CCN(CC)C(=O)NCc1cc(F)c(C)c(Cl)c1</chem> <i>N</i> -[(6-cloro-2-fluoro-3-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	313	2,20	B	
E28	 <chem>CCN(CC)C(=O)NCc1cc(Cl)c(Cl)cc1</chem> <i>N</i> -[(2,3-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-prolinamida	315	2,29	C	

156

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)	Método utilizado para preparar 1-etil-5-oxo-prolina	e.e.
E29	 <i>N</i> -[(3-cloro-2-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	295	2,30	C	
E30	 <i>N</i> -[(2,6-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	315	2,19	C	
E31	 1-etil- <i>N</i> -[(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-5-oxoprolinamida	333	2,35	C	
E32	 <i>N</i> -[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	349	2,49	C	99,1 (A) <i>N</i> -[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxo-L-prolinamida r.t.=5,44 min
E33	 <i>N</i> -[(4-bromo-2-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	345	2,24	C	
E34	 1-etil- <i>N</i> -[(2-metilfenil)metil]-5-oxoprolinamida	261	2,00	C	
E35	 <i>N</i> -[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	349	2,45	C	100,0 (A) <i>N</i> -[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxo-L-prolinamida r.t.=5,51 min

159

Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)	Método utilizado para preparar 1-etil-5-oxoprolina	e.e.
E36	 <i>N</i> -[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	317	2.22	C	

El hidrocloreuro de [(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]amina requerido para la síntesis de *N*-[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida (Ejemplo 36) se preparó de la siguiente manera:

- 5 (i) Se enfrió una disolución de *N,N,N',N'*-tetrametiletilendiamina (39,6 ml, 264 mmol) en tetrahidrofurano (170 ml) en argón hasta -70°C antes de la adición de sec-butil litio (205 ml, 288 mmol). A la mezcla se le añadió luego ácido 3,4-difluorobenzoico (19 g, 120 mmol) como una disolución en tetrahidrofurano (80 ml) en un período de 40 minutos, asegurando que la temperatura de la mezcla no se elevara por encima de -60°C .
- 10 La mezcla se agitó luego a una temperatura de -68°C hasta -70°C durante 1 h antes de añadir una disolución de hexacloroetano (100 g, 422 mmol) en tetrahidrofurano (170 ml) durante un período de 35 minutos mientras se mantuvo la temperatura de la mezcla por debajo de -60°C . La mezcla se agitó a una temperatura de -65°C hasta -70°C durante 2 horas. La mezcla se dejó calentar hasta -10°C y luego
- 15 se añadió agua (500 ml) para enfriar rápidamente la reacción. La mezcla se diluyó con éter dietílico (250 ml) y se separaron las dos capas resultantes. La capa acuosa se acidificó hasta pH1 usando cloruro de hidrógeno concentrado acuoso y luego se extrajo con alícuotas de 2 x 500 ml de éter dietílico. Los extractos orgánicos combinados se pasaron por una frita hidrófoba y se redujeron al vacío para dar un
- 20 sólido amarillo. Esto se recrystalizó a partir de acetato de etilo para producir dos cosechas (8,35 g y 4,47 g) de ácido 2-cloro-3,4-difluorobenzoico puro.

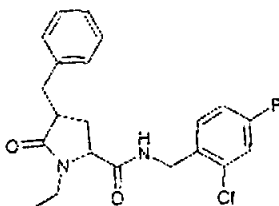
- (ii) Se trató ácido 2-cloro-3,4-difluorobenzoico (2 g, 10,4 mmol) con cloruro de tionilo (3,04 ml) y la mezcla se calentó hasta 80°C durante 90 minutos. La mezcla luego se enfrió y se redujo al vacío. El residuo se disolvió en 1,4-dioxano anhidro (10
- 25 ml) y la mezcla después se enfrió en un baño de hielo-agua. Se añadió amoníaco 0,88 (acuoso, 25 ml) gota a gota a la mezcla que posteriormente se dejó calentar hasta

22°C en un periodo de 2 horas. Este procedimiento se repitió usando 10,8 g de ácido 2-cloro-3,4-difluorobenzoico, 8,2 ml de cloruro de tionilo y 45 ml de amoníaco 0,88, y luego ambas mezclas se combinaron y repartieron entre acetato de etilo (150 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y extrajo con alícuotas de 2 x 150 ml de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron luego con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (100 ml), se secaron usando una frita hidrófoba y se redujeron al vacío para dar 2-cloro-3,4-difluorobenzamida (11,86 g) como un sólido blanco.

LC/MS $[M+H]^+ = 192/194$, tiempo de retención = 1,69 minutos.

- (iii) Se disolvió 2-cloro-3,4-difluorobenzamida (11,85 g, 62 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml) y se trató con borano tetrahidrofurano 1M (247 ml, 247 mmol). La mezcla se calentó hasta 70°C y se agitó durante 18 horas. La mezcla se enfrió luego en un baño de hielo-agua y se añadió gota a gota cloruro de hidrógeno concentrado acuoso (150 ml). El calentamiento, con agitación, a 70°C, se retomó luego por otras 2 horas. La mezcla se dejó enfriar y el disolvente se evaporó al vacío. El residuo se repartió entre acetato de etilo (200 ml) y cloruro de hidrógeno acuoso 2N (200 ml). La capa acuosa se separó y el pH se ajustó hasta 8-9 por adición gota a gota de hidróxido de sodio acuoso 5N. La suspensión turbia resultante se extrajo con acetato de etilo (4 x 200 ml) y los extractos orgánicos combinados se pasaron luego a través de una frita hidrófoba y se redujeron en volumen hasta ~200 ml. La mezcla se acidificó luego por la adición de cloruro de hidrógeno etéreo 1M (100 ml) produciendo la formación de un precipitado. El disolvente se evaporó al vacío para dar un sólido blanco. El sólido se recrystalizó a partir de alcohol metilado (60 ml) para producir tres cosechas de hidrocloreto de [(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]amina puro (masa combinada = 4,46 g) como un sólido blanco.

Ejemplo 37 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolinamida (E37)



- Se suspendió 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolina bruta (0,052 g, 0,09 mmol, preparada como se describe a continuación) en una mezcla de diclorometano (0,5 ml)

161

y dimetilformamida (0,5 ml) y a esto se le añadió N-etil morfolina (0,034 ml, 0,27 mmol) causando la disolución de la mayor parte del material. Se añadieron luego 1-hidroxibenzotriazol (0,016 g, 0,12 mmol) e hidrocloreto de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,022 g, 0,12 mmol), y la mezcla se agitó durante 10 minutos antes de añadir [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,019 g, 0,12 mmol). La mezcla se dejó luego reposar a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió carbonato de hidrógeno sódico acuoso (~2 ml) a la mezcla y se agitó durante 10 minutos. La capa orgánica se aisló filtrando a través de un separador de fases y luego se lavó con cloruro de hidrógeno acuoso 2M. La capa orgánica se separó nuevamente y se evaporó para producir un aceite amarillo que se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer N-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolinamida pura (0,004 g) como un aceite incoloro. LC/MS [M+H]⁺ = 389, tiempo de retención = 2,90 minutos.

La 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera (Método A):

(i) Se disolvió metil (S)-(+)-2-pirrolidinona-5-carboxilato (0,85 g, 5,94 mmol) en diclorometano (5 ml) y se trató con trietilamina (0,869 ml, 6,24 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (0,010 g). A esto se le añadió di-tercbutilo dicarbonato (1,36 g, 6,24 mmol) y la disolución anaranjada resultante se dejó agitar durante una noche. La mezcla se tornó azul/gris y la evaporación del disolvente produjo un aceite grisáceo (1,4 g). Éste se purificó por cromatografía automática en columna sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente 0-60% de acetato de etilo en hexano, para producir 1-(1,1-dimetiletil) 2-metil-5-oxo-1,2-pirrolidinadicarboxilato (1,37 g) como aceite incoloro que se cristalizó en reposo.

(ii) Se disolvió 1-(1,1-dimetiletil) 2-metil-5-oxo-1,2-pirrolidinadicarboxilato (0,324 g, 1,33 mmol) en tetrahidrofurano (3 ml), y la mezcla se enfrió hasta -78°C, usando un baño de acetona/CO₂ sólido, bajo una atmósfera de argón. Se añadió una disolución 1M de bis(trimetilsilil)amida de litio en tetrahidrofurano (1,4 ml, 1,40 mmol) gota a gota y se agitó en argón durante 1 hora. A esto se le añadió luego bromuro de bencilo (0,174 ml, 1,46 mmol) y la mezcla se agitó a -78°C durante otras 2,5 horas. La mezcla se dejó luego calentar hasta temperatura ambiente y se enfrió rápidamente por la adición de cloruro de amonio saturado acuoso (~5 ml), y luego se dejó reposar durante toda la noche a temperatura ambiente. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se diluyó con más agua (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y luego se filtraron y

162

concentraron para proporcionar un aceite amarillo (0,700 g). Éste se purificó por cromatografía automática en columna sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente 0-35% de acetato de etilo en hexano, para producir 1-(1,1-dimetiletil) 2-metil-5-oxo-4-(fenilmetil)-1,2-pirrolidinadicarboxilato como un sólido blanco (0,418 g) después de la evaporación del disolvente.

(iii) Se disolvió 1-(1,1-dimetiletil) 2-metil-5-oxo-4-(fenilmetil)-1,2-pirrolidinadicarboxilato (0,415 g, 1,24 mmol) en cloruro de hidrógeno 4M en dioxano (2 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente se evaporó para producir un aceite incoloro que se cristalizó en reposo para proveer metil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolinato como un sólido cremoso/blanco. (0,205 g). Éste se utilizó en la siguiente etapa sin mayor purificación.

(iv) Se disolvió metil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolinato (0,205 g, 0,88 mmol) en tetrahidrofurano (2,5 ml) y se trató con yoduro de etilo (0,077 ml, 0,97 mmol). La mezcla se enfrió nuevamente hasta 0°C y se trató con hidruro de sodio (0,037 g, de una suspensión al 60% en aceite, 0,92 mmol). Después de agitar a 0°C durante 10-15 minutos, la disolución se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otras 3,5 horas. La mezcla se trató luego con disolución de cloruro de amonio saturado acuoso (~2 ml) y posteriormente se diluyó con diclorometano (5 ml). La capa orgánica se separó por filtración a través de una frita hidrófoba (lavando la capa acuosa con otras alícuotas de diclorometano (2 x 5 ml)). La evaporación de las fases orgánicas combinadas produjo un aceite marrón (~ 0,100 g). Éste se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 0-100% acetato de etilo en hexano, para proveer metil 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolinato parcialmente purificado (~90% puro) (0,024 g) como un aceite amarillo que se utilizó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

(v) Se disolvió metil 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolinato (0,024 g, 0,09 mmol) en metanol (0,5 ml) y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. Se añadió hidróxido sódico acuoso 2M (0,137 ml, 0,27 mmol) a la mezcla y se siguió agitando a 0°C durante 3 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se acidificó por tratamiento con cloruro de hidrógeno acuoso 2M (~ 0,2 ml) para proveer una disolución turbia. La evaporación produjo 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolina bruta (0,052 g) como una mezcla de sólidos blancos y residuos oleosos amarillos. Este material se usó sin mayor purificación.

Alternativamente, podría también prepararse 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolina de la siguiente manera (Método B):

(i) Se disolvió (S)-(+)-L-5-tritiloximetil-2-pirrolidinona (1,88 g, 20 mmol) en



dimetilformamida (9 ml) a 0°C y se trató con hidruro de sodio (suspensión en aceite al 60%, 0,220 g, 5,5 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante 30 minutos y después se trató con yoduro de etilo (0,444 mL, 5,5 mmol). La mezcla se dejó calentar nuevamente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se dividió
5 luego entre acetato de etilo y cloruro de amonio saturado acuoso y se extrajo con acetato de etilo (x3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron en secuencias con agua, disolución acuosa de cloruro de sodio al 50% (x2) y disolución saturada acuosa de cloruro de sodio, y luego se secaron sobre sulfato de sodio. La concentración proporcionó un sólido beis que se purificó por cromatografía automática
10 en columna rápida sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano, para producir 1-etil-5-[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona pura (1,78 g).

(ii) Se añadió una disolución 2M de diisopropilamina de litio en tetrahidrofurano (1,050 ml, 2,1 mmol), a -78°C, a una disolución de 1-etil-5-[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona (0,771 g, 2 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml), y la mezcla resultante se
15 agitó durante 1 h a -78°C. Se añadió luego bromuro de bencilo (0,262 ml, 2,2 mmol) y después de agitar durante una hora más a -78°C, la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se enfrió rápidamente con cloruro de amonio saturado acuoso y luego se extrajo con acetato de etilo (x3). Los
20 extractos orgánicos combinados se lavaron luego con agua y después con disolución saturada acuosa de cloruro de sodio (x2), se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentraron hasta un aceite bruto (1,27 g). El sólido bruto se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre gel de sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano, para proveer el
25 producto deseado (es decir, 1-etil-3-(fenilmetil)-5-[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona (0,561 g)) que se utilizó en la etapa siguiente, como también material de partida sin reaccionar y el producto de desalquilación, 1-etil-3,3-bis(fenilmetil)-5-[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona (0,053 g).

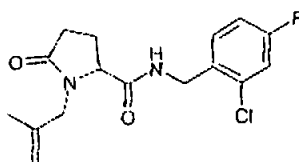
(iii) Se agitó 1-etil-3-(fenilmetil)-5-[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona (0,561
30 g, 1,1 mmol) durante 24 horas a temperatura ambiente en una mezcla de acetonitrilo (21 ml) y ácido fórmico (3 ml). La reacción no se completó en esta etapa, de modo que el disolvente se evaporó y se reemplazó con ácido fórmico (10 ml) y se siguió agitando durante 3 horas. La reacción aún no se completó, de modo que la mezcla se concentró a vacío (mezclando azeotrópicamente con metanol para eliminar todo el ácido fórmico)
35 y luego se disolvió en metanol (20 ml). Luego se añadió Amberlyst 15® a la mezcla y

169

se siguió agitando a temperatura ambiente durante una noche. La resina se separó por filtración, se lavó con más metanol, y el filtrado se concentró hasta una goma (0,625 g). La goma se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano, para producir 1-etil-5-(hidroximetil)-3-(fenilmetil)-2-pirrolidinona (0,170 g) que se utilizó en la etapa siguiente.

(iv) Se disolvió 1-etil-5-(hidroximetil)-3-(fenilmetil)-2-pirrolidinona (0,748 g, 3,21 mmol) en acetonitrilo (5 ml) y se añadieron una disolución tampón acuosa monobásica de fosfato sódico 1M (3,69 ml, 3,69 mmol), algunos cristales de TEMPO (radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) y clorito de sodio (0,580 g, 6,41 mmol), y la mezcla se calentó hasta 40°C. Se añadió luego a la mezcla aproximadamente 1 gota de blanqueador (disolución de hipoclorito sódico, cloro disponible >12%) y se siguió agitando a 40°C por 3 horas. La mezcla se vertió después en hielo-agua que contenía sulfito de sodio al 1% p/p, y la mezcla resultante se ajustó hasta pH2 usando cloruro de hidrógeno acuoso 5N y luego se extrajo con acetato de etilo (x3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con cloruro de sodio saturado acuoso y luego se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron para proveer 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)prolina (0,807 g) como un sólido que se utilizó sin purificación adicional.

Ejemplo 38 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-(2-metil-2-propen-1-il)-5-oxoprolinamida (E38)



Se disolvió 1-(2-metil-2-propen-1-il)-5-oxoprolina bruta (~0,075 g, ~0,41 mmol, preparada como se describe a continuación) en diclorometano (5 ml) y a esto se le añadieron 1-hidroxibenzotriazol (0,061 g, 0,45 mmol), [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,068 g, 0,43 mmol) e hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,087 g, 0,45 mmol). La mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla se diluyó con más diclorometano y se lavó en secuencias con cloruro de hidrógeno acuoso 2M y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa orgánica se filtró a través de un separador de fases y se evaporó para dar un residuo marrón que se purificó por HPLC automática dirigida a masas para producir *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-(2-metil-2-propen-1-il)-5-oxoprolinamida pura (0,018 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+$ = 325,1, tiempo

165

de retención = 2,40 minutos.

La 1-(2-metil-2-propen-1-il)-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

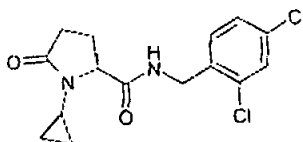
- (i) Se enfrió metanol (55 ml) hasta -10°C (usando un baño de CO_2 sólido/tetracloruro de carbono) con agitación y luego se añadió cloruro de tionilo gota a gota durante 45 minutos. Se añadió luego ácido (D)-glutámico (10 g, 67,96 mmol) en tres porciones durante ~5 minutos y luego la reacción se agitó durante 3 horas mientras se calentaba a 21°C . Los disolventes se evaporaron al vacío para dar un aceite claro (15 g) que se disolvió en una mezcla de agua (150 ml) y dioxano (150 ml).
- 5 A esto se le añadió lentamente carbonato de sodio (46 g, 340 mmol) con agitación. Se añadió luego cloroformato de bencilo (9,64 ml, 68 mmol) y se continuó la agitación durante la noche. La mezcla se trató cuidadosamente con cloruro de hidrógeno acuoso 2N (250 ml), y luego se extrajo con acetato de etilo (2 x 250 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y luego se secaron y evaporaron para
- 10 proveer un aceite claro (18,7 g). Éste se disolvió en diclorometano (400 ml) y se trató con ácido sulfúrico concentrado (1 ml). Se condensó luego un gran exceso de isobutileno en la mezcla y luego se agitó durante una noche a 21°C . Se añadió luego cuidadosamente carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (~ 400 ml) a la mezcla, y la fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó y evaporó al vacío
- 15 para dar un aceite claro (21,9 g). Éste se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con una mezcla 3:1 de ciclohexano y acetato de etilo, para proveer 1-(1,1-dimetiletil) 5-metil N-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]glutamato puro (4,87 g).
- 20

- (ii) A una disolución de hexametildisilazida de potasio (10 ml de una disolución 0,6M en tolueno, 6 mmol) en tetrahidrofurano (25 ml) a -70°C , se añadió gota a gota una disolución de 1-(1,1-dimetiletil) 5-metil N-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]glutamato (1.05 g, 3 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) durante ~5 minutos. La mezcla se agitó a -70°C durante 1 hora y luego se trató con yoduro de metililo (2,18 g, 12 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml). Se siguió agitando a -78°C durante 2 horas y luego se calentó hasta 21°C . Después de agitar por otra hora más, la mezcla se vertió en cloruro de
- 25 hidrógeno acuoso 1N y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron y se evaporaron al vacío para dar un sólido amarillo (1,03 g). Éste se purificó por cromatografía en columna sobre sílice, eluyendo con una mezcla 4:1 de ciclohexano y acetato de etilo, para proveer 1-dimetiletil 1-(2-metil-2-propen-1-il)-5-oxoprolinato puro como un aceite claro
- 30 (0,322 g).
- 35

766

- (iii) Se disolvió 1,1-dimetiletil 1-(2-metil-2-propen-1-il)-5-oxoprolinato (0,099 g, 0,41 mmol) en una mezcla de diclorometano (2 ml) y ácido trifluoroacético (2 ml), y se agitó durante una noche a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó (mezclando azeotrópicamente con tolueno para remover trazos de ácido trifluoroacético) a fin de dar 1-(2-metil-2-propen-1-il)-5-oxoprolina bruta como un aceite marrón que se usó sin más purificación.

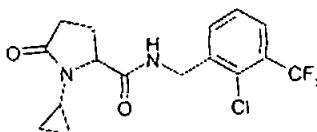
Ejemplo 39 1-Ciclopropil-N-[(2,4-diclorofenil)metil]-5-oxoprolinamida (**E39**)



- A una disolución de (2,4-diclorofenil)metil isocianuro (0,047 g, 0,25 mmol) y ácido 4-oxobutanoico (15% en agua, 0,26 ml, 0,4 mmol) en metanol (1,75 ml) se le añadió ciclopropilamina (0,042 ml, 0,6 mmol). La mezcla se calentó en un microondas a 100°C durante 30 minutos. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para dar 1-ciclopropil-N-[(2,4-diclorofenil)metil]-5-oxoprolinamida (0,072 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+$ = 326/328, tiempo de retención = 2,29 minutos.

Ejemplo 40

N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-ciclopropil-5-oxoprolinamida (**E40**)



- A una disolución de [2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil isocianuro (0,088 g, 0,4 mmol) y semialdehído succínico (15% en agua, 0,26 ml, 0,4 mmol) en metanol (1,75 ml) se le añadió ciclopropilamina (0,042 ml, 0,6 mmol). La mezcla se calentó en un microondas a 100°C durante 30 minutos. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para dar N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-ciclopropil-5-oxoprolinamida (0,076 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+$ = 361/363, tiempo de retención = 2,39 minutos.

El [2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil isocianuro utilizado en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

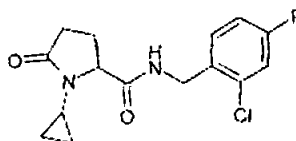
- (i) Se añadió gota a gota una disolución de [[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina (1,05 g, 5 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (10 ml) a una disolución de N-formil benzotriazol (0,772 g, 5,25 mmol) en tetrahidrofurano

169

anhidro (10 ml). La reacción se agitó a 22°C durante 18 horas, luego se redujo al vacío y el residuo se dividió entre diclorometano (75 ml) e hidróxido de sodio acuoso 2N (40 ml). La capa orgánica se separó y extrajo con hidróxido de sodio acuoso 2 N (40 ml). La capa orgánica se pasó a través de una frita hidrófoba y se redujo al vacío para dar un sólido blanco. El producto bruto se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente disolvente de 0-10% acetato de etilo en diclorometano, para dar {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}formamida como un sólido blanco.

(ii) Se enfrió una disolución de {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}formamida (0,67 g, 2,82 mmol) en diclorometano anhidro (20 ml) en argón en un baño de hielo-agua antes de la adición de diisopropilamina (1,78 ml, 12,7 mmol) seguida de oxidloruro de fósforo (0,393 ml, 4,23 mmol). La reacción se agitó entre 2-5°C por 2 horas. La mezcla se redujo luego al vacío y el residuo se trató con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (20 ml) y se extrajo con diclorometano (20 ml). La capa orgánica se pasó a través de una frita hidrófoba y se redujo al vacío para dar un sólido amarillo. El secado posterior al vacío proporcionó [2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil isocianuro como una goma anaranjada (0,66 g) que se usó sin más purificación.

Ejemplo 41 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-ciclopropil-5-oxoprolinamida (E41)



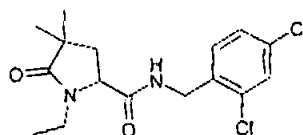
20

A una disolución de [2-cloro-4-fluoro-fenil]metil isocianuro (0,068 g, 0,4 mmol) y semialdehído succínico (15% en agua, 0,26 ml, 0,4 mmol) en metanol (1,75 ml) se le añadió ciclopropilamina (0,042 ml, 0,6 mmol). La mezcla se calentó en un microondas a 100°C durante 30 minutos. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer una goma incolora que se trituró con éter dietílico para dar *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-ciclopropil-5-oxoprolinamida como un sólido crema pálido (0,058 g). LC/MS $[M+H]^+ = 310$, tiempo de retención = 2,16 minutos.

El [2-cloro-4-fluoro-fenil]metil isocianuro utilizado como el material de partida se preparó en un modo análogo a aquel descrito para la preparación de [2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil isocianuro en el ejemplo 40 pero usando 2-cloro-4-fluorofenil]metil]amina en lugar de 2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina.

30

166

Ejemplo 42 *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida (E42)

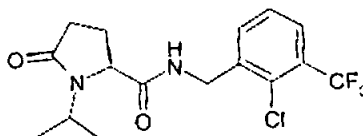
Se disolvieron (2,4-diclorofenil)metil isocianuro (0,075 g, 0,4 mmol) y ácido 2,2-dimetil-4-oxobutanoico (0,115 g, 0,6 mmol) en metanol (2 ml). Se añadió disolución de
 5 etilamina (2M en agua, 0,3 ml, 0,6 mmol) y la mezcla se calentó en un recipiente sellado a 100°C durante 30 minutos en un reactor de microondas. La mezcla se dejó reposar un fin de semana y luego se eliminó el disolvente al vacío, y el aceite anaranjado resultante se purificó por HPLC automática dirigida a masas para producir una goma oleosa clara que se trituró con éter dietílico para proveer *N*-[(2,4-
 10 diclorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida como un sólido blanco (0,024 g). LC/MS [M+H]⁺ = 343, tiempo de retención = 2,57 minutos.

El ácido 2,2-dimetil-4-oxobutanoico utilizado como el material de partida en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

(i) Se disolvió ácido 2,2-dimetil-4-pentenoico en diclorometano (25 ml) y se
 15 enfrió hasta -78°C en un baño de CO₂/acetona, y se burbujeó oxígeno a través de la mezcla durante 5 minutos. Se encendió el generador de ozono y se burbujeó ozono a través de la mezcla durante 15 minutos. Se detuvo luego el flujo de ozono y la mezcla se lavó con oxígeno durante 5 minutos y luego con argón durante 2 minutos. La TLC indicó que la reacción no había avanzado significativamente, de modo que se burbujeó
 20 argón a través de la mezcla por otros 15 minutos, después de lo cual persistió un color azul pálido y se formó una suspensión. Se apagó el flujo de ozono y la mezcla se lavó con oxígeno durante 5 minutos y luego con argón durante 10 minutos (hasta que la salida de gases produjo una respuesta negativa al papel de almidón/yodo humedecido). Se añadió luego sulfuro de dimetilo (1,72 ml, 23,41 mmol) a la mezcla, y
 25 ésta se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla se concentró para dar un aceite incoloro (1,5 g). Se purificó 1,4 g de este material por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 0-50% acetato de etilo en diclorometano, para producir ácido 2,2-dimetil-4-oxobutanoico como un aceite incoloro (0,649 g).

30 Ejemplo 43 *N*-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida (E43)

169



Se disolvió 1-(1-metiletil)-5-oxoprolina (0,100 g, 0,58 mmol) en diclorometano (20 ml) y a esto se le añadió hidrocloreuro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,111 g, 0,58 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,078 g, 0,58 mmol) y N-etil morfolina (0,223 ml, 1,75 mmol). Finalmente, se añadió {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina a la mezcla y se siguió agitando durante ~48 horas. La mezcla se trató luego con carbonato de hidrógeno saturado acuoso (20 ml) y se agitó vigorosamente. La capa acuosa se eliminó usando un separador de fases y luego se eliminó el disolvente de la capa orgánica usando una unidad de descarga de argón. El residuo resultante se trató con una mezcla de agua y acetato de etilo (25 ml, 1:1) y la capa acuosa se desechó posteriormente. La capa orgánica se filtró a través de un separador de fases y se evaporó para proveer un aceite. Esto se trituroó con éter dietílico para producir un sólido y éste se purificó posteriormente por HPLC automática dirigida a masas para dar N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida (0,097 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+ = 363$, tiempo de retención = 2,48 minutos.

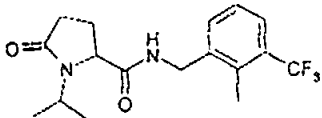
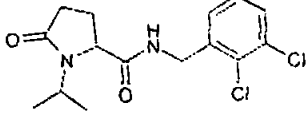
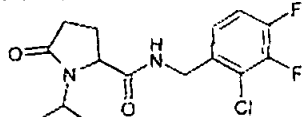
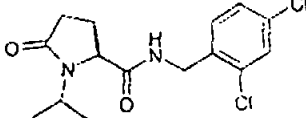
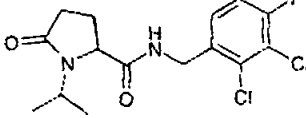
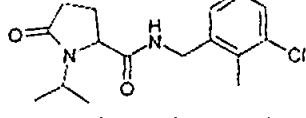
La 1-(1-metiletil)-5-oxoprolina empleada en el procedimiento anterior se preparó en un modo análogo a aquel descrito previamente para la síntesis de metil 1-etil-5-oxo-prolinato (véase el ejemplo 3) pero usando acetona en lugar de acetaldehído y con la adición de una etapa de desprotección de éster subsiguiente (usando técnicas convencionales, es decir, hidróxido de sodio en metanol) (en oposición a la desprotección combinada y el acoplamiento de amida descritos en el ejemplo 3).

Ejemplos 44-49

En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 43 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 3) se prepararon sustituyendo la {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina usada en el procedimiento anterior por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 3 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario.

Tabla 3

170

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E44	 1-(1-metiletil)-N-[(2-metil-3-(trifluorometil)fenil)metil]-5-oxoprolinamida	343	2,48
E45	 N-[(2,3-diclorofenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida	329	2,35
E46	 N-[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida	331	2,26
E47	 N-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida	329	2,4
E48	 N-[(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxo-L-prolinamida	346,9	2,41
E49	 N-[(3-cloro-2-metilfenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida	309	2,34

El hidrocloreuro de [(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]amina requerido para la síntesis de *N*-[(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]-1-(1-metiletil)-5-oxo-L-prolinamida (ejemplo 48) se preparó de la siguiente manera:

5

(i) Se añadió nitrito de sodio (0,172 g, 2,5 mmol) a una disolución agitada de 2-cloro-6-fluoro-3-metil-fenilamina (0,400 g, 2,5 mmol) en agua (20 ml) y cloruro de hidrógeno acuoso al 37% (5 ml) a -5°C. La mezcla se agitó a -5°C durante 5 minutos y luego se añadió en un recipiente a una disolución de cloruro de cobre (I) (0,742 g, 7,5

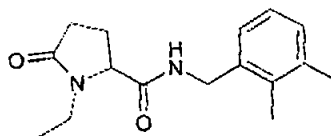
mmol) en cloruro de hidrógeno acuoso al 37% (5 ml) mientras se mantenía la temperatura a -5 hasta 0°C. La mezcla de reacción se calentó hasta 38°C y se agitó durante una 1 hora, luego la mezcla se enfrió y se añadió éter dietílico (20 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con cloruro de hidrógeno acuoso 1N y luego con agua. La
5 capa orgánica se secó luego sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con éter de petróleo para producir 2,3-dicloro-1-fluoro-4-metilbenceno (0,090 g, 0,5 mmol) como un sólido blanco.

(ii) Se añadió 2,3-dicloro-1-fluoro-4-metilbenceno (0,090 g, 0,5 mmol) a una
10 mezcla agitada de dicromato de potasio (0,284 g, 1 mmol) en ácido acético (1 ml). Se añadió luego lentamente ácido sulfúrico al 97% (0,5 ml) a la mezcla que se calentó posteriormente a 100°C por 2 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron agua y hielo, y el sólido verde así obtenido se filtró y lavó con agua fría para producir ácido 2,3-dicloro-4-fluorobenzoico (0,056 g, 0,27 mmol) como un sólido
15 blanco.

(iii) Una disolución de ácido 2,3-dicloro-4-fluorobenzoico (0,200 g, 0,92 mmol) en diclorometano (~4 ml) se trató con 1-hidroxibenzotriazol (0,162 g, 1,2 mmol), hidroccloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,230 g, 1,2 mmol) y trietilamina (0,56 ml, 4,0 mmol) en argón a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a
20 temperatura ambiente durante 40 minutos, luego se trató con hidróxido de amonio acuoso al 32% (0,088 ml) y se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con diclorometano y se lavó en secuencias con agua y luego con carbonato de hidrógeno saturado acuoso. La capa orgánica se separó y secó sobre sulfato de sodio, luego se concentró para proveer 2,3-dicloro-4-fluorobenzamida (0,156
25 g) como un sólido blanco que se utilizó sin más purificación.

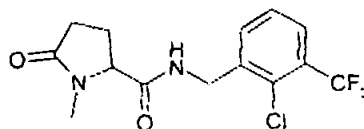
(iv) Se calentó una disolución de 2,3-dicloro-4-fluorobenzamida (0,750 g, 3,62 mmol) en tetrahidrofurano seco (2 ml) hasta 90°C en atmósfera de nitrógeno. Se añadió una disolución 10M de complejo de borohidruro dimetilsulfuro en tetrahidrofurano (1,05 ml, 5,43 mmol) a la disolución caliente y se siguió agitando
30 durante 4 horas. La mezcla se trató luego con cloruro de hidrógeno acuoso 6N y se siguió calentando durante 30 minutos. Los disolventes se evaporaron y el residuo bruto se purificó por cartucho SCX y posterior cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con metanol al 5% en diclorometano. La amina obtenida se trató con cloruro de hidrógeno etéreo para dar [(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]amina cloruro de
35 hidrógeno (0,360 g) como un sólido blanco.

172

Ejemplo 50 *N*-[(2,3-dimetilfenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida (**E50**)

Se disolvió 1-etil-5-oxoprolina (0,080 g, 0,51 mmol, preparada en un modo análogo a aquel descrito para el ejemplo 12, método A) en diclorometano (5 ml) y a esto se le añadieron hidrocloreuro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,117 g, 0,61 mmol), *N*-etil morfolina (0,195 ml, 1,53 mmol) y 2,3-dimetil bencilamina (0,082 g, 0,61 mmol). La mezcla se agitó durante ~17 horas y luego se dejó reposar durante un fin de semana. La mezcla se trató luego con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (~3 ml) y se agitó vigorosamente durante ~10 minutos. La capa orgánica se separó usando una frita hidrófoba y la capa acuosa se extrajo con más diclorometano (~2 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron para dar un aceite amarillo (~0,2 g). Éste se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-[(2,3-dimetilfenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida pura (0,072 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+ = 275$, tiempo de retención = 2,12 minutos.

Ejemplo 51 *N*-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (**E51**)



Se disolvió 1-metil-5-oxoprolina (2,27 g, 15,88 mmol, preparada como se describe a continuación) en diclorometano (150 ml), y a esto se le añadieron hidrocloreuro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (3,35 g, 17,47 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (2,36 g, 17,47 mmol). La mezcla se agitó durante ~10 minutos y luego se añadieron trietilamina (2,21 ml, 15,88 mmol) y [[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina (3,66 ml, 17,47 mmol), y la mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente durante una noche (~17 horas). Durante este tiempo se formó un precipitado blanco. La mezcla se trató luego con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (~100 ml) y se agitó durante 10 minutos. La capa orgánica se separó usando una frita hidrófoba y luego se añadió cloruro de hidrógeno acuoso 2N y se mezcló y separó nuevamente. La capa orgánica se concentró para dar sólidos blancos (~2,5 g). El sólido resultante se disolvió en acetato de etilo (~200 ml) y se lavó con

agua (4 x 50 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó luego pasando a través de un separador de fases y se concentró para proveer *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-metil-5-oxo-L-prolinamida pura como un sólido blanco fino (2,48 g).

5 LC/MS $[M+H]^+ = 335$, tiempo de retención = 2,24 minutos.

^1H RMN (CDCl_3 , 500MHz) δ 2,02 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 2,47 (m, 1H), 2,81 (s, 3H), 4,00 (dd, 1H, $J = 8,9, 4,2$ Hz), 4,60 (dd, 1H, $J = 15,1, 6,2$ Hz), 4,65 (dd, 1H, $J = 15,1, 6,2$ Hz), 6,56 (t ancho, 1H, $J = 5,8$ Hz), 7,38 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,60 (dd, 1H, $J = 7,6, 1,0$ Hz), 7,68 (dd, 1H, $J = 7,9, 1,2$ Hz); ^{13}C RMN δ 176,0, 171,5, 137,5,
10 133,9, 131,7, 129,3, 127,4, 127,0, 122,8, 63,8, 41,8, 29,4, 29,2, 23,4.

La 1-metil-5-oxoprolina empleada como el material de partida se preparó de la siguiente manera:

(i) Se dividió ácido *N*-metil-L-glutámico (9,81 g, 60,87 mmol) en dos partidas iguales y cada una se suspendió en agua (15 ml) y se calentó en un tubo sellado a
15 140°C durante 30 minutos en un reactor de microondas para producir una disolución clara. Las dos partidas después se combinaron y el agua se evaporó y secó al vacío para proveer un sólido blanco. El sólido se trituró con éter, luego se filtró y lavó con más éter para producir, después del secado, 1-metil-5-oxo-prolina (7,47 g) como un sólido blanco.

20 *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-metil-5-oxoprolinamida también se puede preparar como se describe a continuación:

Se suspendió 1-metil-5-oxoprolina (49,0 g, 0,342 mol, preparada como se describió anteriormente) en DCM (600 ml) (gotas de temperatura interna de 20°C a 13,7°C). Se añadió EEDQ (2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, 75,26 g, 0,359
25 mol, 1,05 eq) en una porción y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió luego una disolución de 1-[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metanamina (88,77 g, 0,359 mol, 1,05 eq) en DCM (250 ml) gota a gota a la mezcla en 20 minutos (exotermo leve hasta 19°C) y los sólidos restantes se lavaron luego en la mezcla usando DCM adicional (150 ml). Se agitó luego la mezcla a
30 temperatura ambiente durante una noche.

Se añadió carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (300 ml) a la mezcla y se agitó durante 5 minutos. La capa orgánica se separó y se lavó en secuencias con disolución de cloruro de sodio saturado acuoso (300 ml), cloruro de hidrógeno acuoso 2N (3 x 300 ml), agua (300 ml) y disolución de cloruro de sodio
35 saturado acuoso (300 ml). La disolución orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro,

se filtró y se evaporó al vacío. El sólido resultante se trituró luego con éter (~500 ml) y se recogió el sólido, se lavó con éter y se secó (30°C, horno de vacío durante un fin de semana) para producir un sólido incoloro (91,1 g, 80%). Este material se combinó con una partida similar, preparada en un modo análogo, y el material combinado (total de 178 g) se disolvió en acetato de etilo (2,75 l) con calentamiento (reflujo moderado, agitación superior). La disolución caliente y clara resultante se agitó moderadamente y se enfrió hasta temperatura ambiente durante una noche. El sólido se recogió, se lavó con acetato de etilo frío (500 ml) y se secó (50°C en un horno de vacío, ~3 días) para producir *N*-[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida, como agujas incoloras (148,4 g).

LC/MS [M+H]⁺ = 335/337, tiempo de retención = 2,26 minutos.

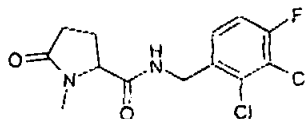
¹H RMN (CDCl₃, 500MHz) δ 1,86 (m, 1H), 2,21 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 2,28 (m, 1H), 2,64 (s, 3H), 4,12 (dd, 1H, J = 8,3, 3,5 Hz), 4,47 (d, 2H, J = 5,8 Hz), 7,58 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,65 (dd, 1H, J = 7,8, 1,0 Hz), 7,80 (dd, 1H, J = 7,8, 1,2 Hz), 8,81 (t ancho, 1H, J = 5,7 Hz); ¹³C RMN δ 174,4, 171,4, 138,8, 133,1, 129,8, 127,5, 127,1, 126,6, 122,9, 61,6, 40,2, 29,1, 28,0, 22,5.

Exceso enantiomérico = 99,1%, según lo determinado por cromatografía quiral, método A, indicativo de *N*-[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxo-L-prolinamida

tiempo de retención = 6,99 minutos

[α]_D = -0,8° (c=1, MeOH), Temperatura = 29,3°C, longitud de onda = 589nm
punto de fusión = 173°C

Ejemplo 52 *N*-[(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (E52)



Se disolvió 1-metil-5-oxoprolina (0,060 g, 0,42 mmol, preparada como se describió anteriormente para el ejemplo 51) en diclorometano (5 ml) y a esto se le añadió hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*'-etilcarbodiimida (0,096 g, 0,5 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,068 g, 0,5 mmol) y *N*-etil morfolina (0,160 ml, 1,26 mmol). La mezcla se agitó durante ~10 minutos y luego se añadió hidrocloreto de [(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,081 g, 0,42 mmol, preparado como se describió previamente para el ejemplo 48), y la mezcla se dejó agitar durante una noche (~17 horas) y luego durante un fin de semana. La mezcla se trató luego con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (~3 ml) y se agitó vigorosamente

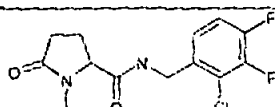
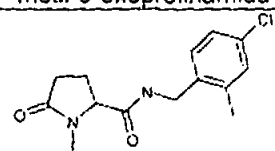
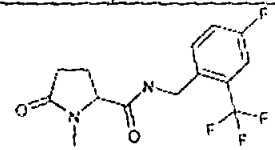
durante 10 minutos. La capa orgánica se separó usando una frita hidrófoba, lavando la capa acuosa con más diclorometano (~2 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se concentraron para producir un sólido color crema. El sólido se repartió entre acetato de etilo (~20 ml) y agua (~10 ml), y la capa orgánica se separó luego pasando a través de un separador de fases y se concentró para proveer -[(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida pura como un sólido blanquecino.

LC/MS $[M+H]^+ = 319$, tiempo de retención = 2,2 minutos.

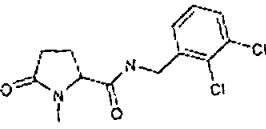
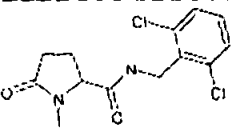
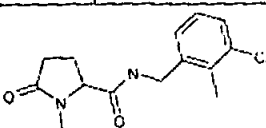
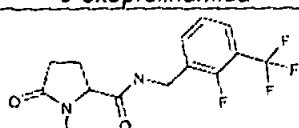
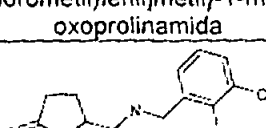
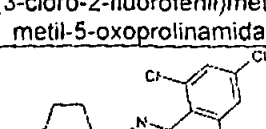
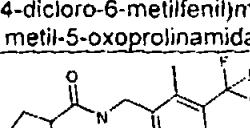
Ejemplos 53-64

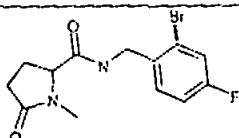
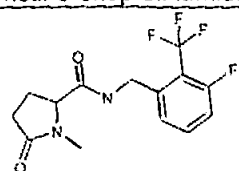
En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 52 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 4) se prepararon sustituyendo el hidrocloruro de [(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]amina usado en el procedimiento anterior por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 4 son comercializados por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química o usando métodos análogos.

Tabla 4

Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)
E53	 <i>N</i> -[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	303	2,04
E54	 <i>N</i> -[(4-cloro-2-metilfenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	281	2,29
E55	 <i>N</i> -[(4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	319	2,29

176

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E56	 <i>N</i> -[(2,3-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	301	2,28
E57	 <i>N</i> -[(2,6-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	301	2,15
E58	 <i>N</i> -[(3-cloro-2-metilfenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	281	2,27
E59	 <i>N</i> -[(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	319	2,32
E60	 <i>N</i> -[(3-cloro-2-fluorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	285	2,14
E61	 <i>N</i> -[(2,4-dicloro-6-metilfenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida	315	2,3
E62	 1-metil- <i>N</i> -[(2-metil-3-(trifluorometil)fenil)metil]-5-oxoprolinamida	315,1	2,26

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E63	 <i>N</i> -((2-bromo-4-fluorofenil)metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	330,9	2,0
E64	 <i>N</i> -((3-fluoro-2-(trifluorometil)fenil)metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	319	2,1

Las aminas requeridas para las síntesis de los ejemplos 62-64 se prepararon de acuerdo con los procedimientos descritos, respectivamente, a continuación:

- 5 1) Hidrocloruro de {[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (Amina empleada para preparar el Ejemplo 62)

Se añadió borano tetrahidrofurano (1M, 39,4 ml, 39,4 mmol) a una disolución de 2-metil-3-trifluorometil benzamida (2 g, 9,85 mmol) en tetrahidrofurano (75 ml) y se agitó a 70°C durante 5 horas. El LCMS demostró que la reacción estaba incompleta, de modo que se siguió calentando a 70°C en argón durante una noche y después de esto por otras 5 horas. La mezcla de reacción se trató con cloruro de hidrógeno acuoso 2N y se agitó a 100°C durante 4 horas, y luego se dejó enfriar durante un fin de semana. La mezcla se redujo hasta secarse al vacío y luego se repartió entre diclorometano e hidróxido de sodio acuoso 2N. La capa orgánica se separó usando una frita hidrófoba y se redujo para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice (eluyendo con amoníaco/metanol 2N al 0-5% en diclorometano). El disolvente se evaporó luego y el residuo se absorbió en acetato de etilo y se trató con cloruro de hidrógeno etéreo 1M. El sólido que se precipitó se recogió por filtración y esto se trituro luego con diclorometano y después de la filtración se obtuvo hidrocloruro de 2-Metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (1,4 g) como un sólido blanco.

LC/MS [M+H]⁺ = 173, tiempo de retención = 1,30 minutos.

- 2) Hidrocloruro de [(2-bromo-4-fluorofenil)metil]amina (Amina empleada para preparar el Ejemplo 63)

(i) Se combinaron bromuro de 2-bromo-4-fluorobencilo (5 g 18,8 mmol) y ftalimida de potasio (4 g, 21,6 mmol) en dimetilformamida (200 ml), y se agitó a 80°C durante 18 horas durante una noche. La mezcla se redujo al vacío y el residuo se repartió entre éter dietílico y agua. Los sólidos se retiraron mediante filtración y la capa acuosa se lavó con más éter (2 x 50 ml). Las capas de éter se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio, luego se filtraron y evaporaron para proporcionar un sólido blanquecino (3,36 g). El sólido se trituró con metanol y la filtración proporcionó 2-[(2-bromo-4-fluorofenil)metil]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona como un sólido (2,06 g) que se usó sin más purificación en la siguiente etapa.

10 LC/MS [M+H]⁺ = 334, tiempo de retención = 3,30 minutos.

(ii) Se añadió hidrato de hidrazina (0,655 ml, 21 mmol) a una suspensión de 2-[(2-bromo-4-fluorofenil)metil]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona (2 g, 6 mmol) en etanol (60 ml), y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción no se había terminado de completar en esta etapa, de modo que la mezcla se calentó a 100°C por un total de 2 horas (la mezcla se tornó blanca y turbia durante este tiempo). La mezcla se filtró para eliminar los sólidos y después se enfrió y filtró nuevamente. Los sólidos se lavaron con etanol frío y luego las fracciones de etanol combinadas se evaporaron hasta secarse al vacío. El residuo resultante se dividió entre cloruro de hidrógeno acuoso 2N y diclorometano. La fase orgánica se separó usando una frita hidrófoba. La capa acuosa se lavó con más diclorometano y se separó nuevamente. La capa acuosa se redujo luego al vacío para dejar un sólido amarillo pálido (0,876 g). El sólido se absorbió en disolución saturada acuosa de carbonato de hidrógeno y se extrajo con diclorometano. La separación por frita hidrófoba y evaporación produjo un residuo que se disolvió en éter dietílico y se trató con cloruro de hidrógeno etéreo. Se precipitó un sólido amarillo pálido de la mezcla. La evaporación y el secado proporcionaron hidrocloreuro de [(2-bromo-4-fluorofenil)metil]amina (0,789 g).

20 LC/MS [M+H]⁺ = 203, tiempo de retención = 1,08 minutos.

3) Hidrocloreuro de [(3-fluoro-2-(trifluorometil)fenil)metil]amina (Amina empleada para preparar el Ejemplo 64)

30 Se añadió gota a gota borano tetrahidrofurano (1M, 19,2 ml, 19,2 mmol) a una disolución de 3-fluoro-2-(trifluorometil)benzamida (1 g, 4,8 mmol) en tetrahidrofurano (40 ml) en argón a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 70°C y luego se añadió otra parte alícuota de borano tetrahidrofurano (10 ml, 10 mmol) y se siguió calentando a 70°C durante un fin de semana. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se trató con cloruro de hidrógeno acuoso (15 ml) y se

agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió disolución acuosa de hidróxido sódico hasta que el pH de la mezcla estuvo entre 8-9, y luego la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se filtraron a través de una frita hidrófoba y luego se evaporaron al vacío. El residuo se redisolvió en diclorometano, se filtró a través de una frita hidrófoba y se evaporó para proveer un aceite amarillo. El aceite se disolvió en cloruro de hidrógeno acuoso 2M. Se formó un precipitado blanco y éste se recogió por filtración al vacío y luego se cargo en columnas SCX equivalentes de 4 x 10 g. Las columnas se lavaron con metanol y agua y luego se utilizó amoníaco acuoso para eliminar el producto. Estas últimas fracciones se redujeron al vacío para dar un aceite amarillo (0,4 g). El aceite se disolvió en éter dietílico y se trató con cloruro de hidrógeno etéreo 1M hasta que ya no se formó ningún precipitado más. La mezcla se redujo al vacío para proveer hidrocloreto de {[3-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metil}amina como un sólido blanco.

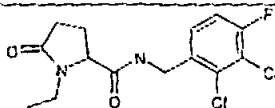
LC/MS $[M+H]^+ = 193$, tiempo de retención = 1,15 minutos.

15 Ejemplos 65-69

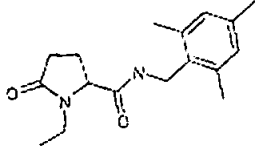
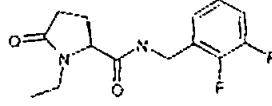
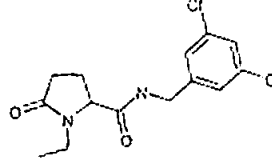
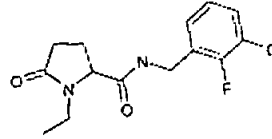
Los ejemplos tabulados a continuación (Tabla 5) se prepararon en un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 12, sustituyendo la [(2,3,4-trifluorofenil)metil]amina usada en el procedimiento descrito en el ejemplo 12 por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 5 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario. La 1-etil-5-oxo-prolina utilizada para preparar estos ejemplos se preparó a su vez usando el método C como se describió para el ejemplo 12 aparte del caso del ejemplo 65, donde se usó el método A.

25

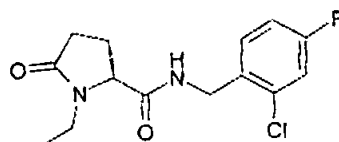
Tabla 5

Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)
E65	 <i>N</i> -[(2,3-dicloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	333	2,31

180

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E66	 1-etil-5-oxo-N-[(2,4,6-trimetilfenil)metil]-prolinamida	288	2,41
E67	 N-[(2,3-difluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	283	1,96
E68	 N-[(3,5-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	315	2,39
E69	 N-[(3-cloro-2-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	299	2,22

Ejemplo 70 N-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida (E70)



Se disolvió 1-etil-5-oxoprolina (0,100 g, 0,64 mmol) en una mezcla de diclorometano (3 ml) y dimetilformamida (0,5 ml) y a esto se le añadió hidrocloreuro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,147 g, 0,77 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,104 g, 0,77 mmol) y N-etil morfolina (0,244 ml, 1,92 mmol). La mezcla se agitó durante 10 minutos y luego se añadió 2-cloro-4-fluorobencilamina a la mezcla y se siguió agitando durante una noche (~16 horas) a temperatura ambiente. La mezcla se trató luego con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (~2 ml) y se agitó vigorosamente durante ~10 minutos. La capa acuosa se eliminó usando un separador de fases y se extrajo con más diclorometano (2 x 1 ml). Las capas orgánicas

181

combinadas se concentraron para producir un aceite amarillo y éste se purificó posteriormente por HPLC automática dirigida a masas para dar *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida (0,065 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+ = 299$, tiempo de retención = 2,16 minutos.

- 5 Exceso enantiomérico = 80,9%, según lo determinado por cromatografía quiral, método B, indicativo de *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida
 tiempo de retención = 5,91 minutos

La 1-etil-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó como se describe a continuación:

- 10 (i) Se disolvió éster etílico del ácido D-piroglutámico (4,17 g, 26,53 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml) y se añadió yoduro de etilo (2,23 ml, 27,86 mmol) para producir una disolución amarilla pálida. Ésta se enfrió hasta 0 °C y se añadió hidruro de sodio (60% en aceite, 1,11 g, 27,86 mmol) en porciones. Después de la adición de
15 todo el hidruro de sodio, la mezcla se agitó a 0°C por otros 20 minutos hasta que se había interrumpido todo el burbujeo. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche en argón. La mezcla se trató luego con disolución saturada acuosa de cloruro de amonio (~5 ml). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con más diclorometano (3 x 20 ml). Las capas orgánicas
20 combinadas se secaron pasándose a través de un separador de fases y luego se concentraron hasta obtener un aceite verde/marrón (3,2 g). Esto se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano, para producir etil 1-etil-5-oxoprolinato como un aceite amarillo (1,33 g) que se utilizó en la etapa siguiente sin más purificación.
- 25 (ii) Se disolvió etil 1-etil-5-oxoprolinato (1,33 g, 7,18 mmol) en etanol (10 ml) y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esto se le añadió disolución acuosa de hidróxido sódico 12,5M (1,72 ml, 21,53 mmol) y la mezcla se agitó durante ~4 horas a 0°C. El etanol se evaporó al vacío y el residuo acuoso se acidificó con cloruro de hidrógeno acuoso 2N hasta pH1. El volumen de la fase acuosa se redujo a ~3 ml a
30 vacío y luego se extrajo con una mezcla 3:1 de cloroformo e isopropanol usando un separador de fases. Las capas orgánicas combinadas se concentraron hasta un aceite amarillo pálido que al secar a vacío se cristalizó para obtener 1-etil-5-oxoprolina como un sólido blanco (1,12 g).

Ejemplos 71-82

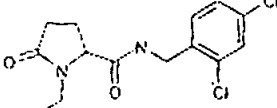
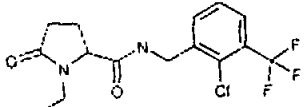
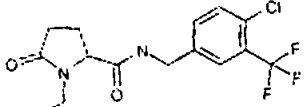
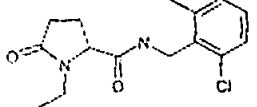
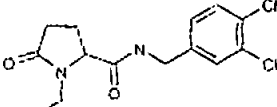
- 35 En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 70 anterior, los

182

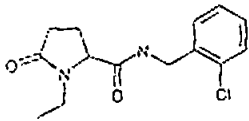
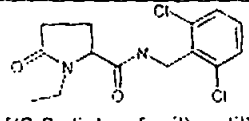
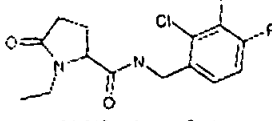
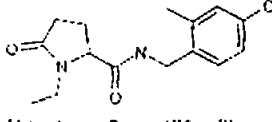
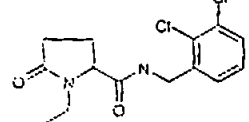
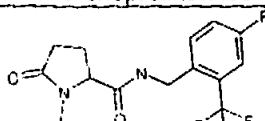
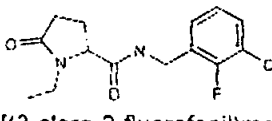
compuestos tabulados a continuación (Tabla 6) se prepararon sustituyendo la 2-cloro-4-fluorobencilamina usada en el procedimiento anterior por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 6 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario. Cuando se determina (por HPLC quiral), el exceso enantiómero (e.e.) del isómero que se muestra también se menciona con su nombre estereoespecífico, el método de separación quiral utilizado entre paréntesis y el tiempo de retención (r.t.) correspondiente en ese método.

10

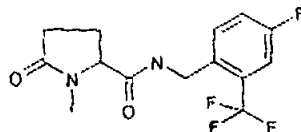
Tabla 6

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)	e.e.
E71	 <i>N</i> -[(2,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	315	2,36	75,6 % (c) <i>N</i> -[(2,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida r.t.=6,18 min
E72	 <i>N</i> -[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	349	2,44	76,4 % (A) <i>N</i> -[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida r.t.=4,44 min
E73	 <i>N</i> -[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	349	2,5	77,3 % (A) <i>N</i> -[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida r.t.=4,45 min
E74	 <i>N</i> -[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	295	2,23	77,6 % (c) <i>N</i> -[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida r.t.=5,08 min
E75	 <i>N</i> -[(3,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	315	2,38	76,3 % (c) <i>N</i> -[(3,4-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida r.t.=4,38 min

183

Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)	e.e.
E76	 <i>N</i> -[(2-clorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	281	2,06	
E77	 <i>N</i> -[(2,6-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	315	2,11	
E78	 <i>N</i> -[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	317	2,13	
E79	 <i>N</i> -[(4-cloro-2-metilfenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	295	2,24	
E80	 <i>N</i> -[(2,3-diclorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	315	2,23	
E81	 1-etil- <i>N</i> -[(4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil)metil]-5-oxoprolinamida	333	2,25	
E82	 <i>N</i> -[(3-cloro-2-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxoprolinamida	299	2,1	

Ejemplo 83 *N*-[(4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (E83)



Se preparó *N*-{[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metil}-1-metil-5-oxoprolinamida en un modo análogo a aquel descrito para la síntesis anterior de *N*-{(2-cloro-4-fluorofenil)metil}-1-etil-5-oxoprolinamida (Ejemplo 70) pero se usó 1-metil-5-oxoprolina (preparada como se describe a continuación) en lugar de 1-etil-5-oxoprolina, y {[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metil}amina en lugar de 2-cloro-4-fluorobencilamina.

LC/MS $[M+H]^+ = 319$, tiempo de retención = 2,14 minutos.

La 1-metil-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó como

10 se describe a continuación:

(i) Se disolvió éster etílico del ácido D-piroglutámico (4,0 g, 25,5 mmol) en tetrahidrofurano (25 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se añadió yoduro de metilo (1,66 ml, 26,7 mmol) y se siguió agitando durante 10 minutos bajo argón a 0°C. Se añadió luego hidruro de sodio (60% en aceite, 1,6 g, 26,7 mmol) en porciones (permitiendo que reaccionara cada porción). Después de añadir todo el hidruro de sodio, la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante una noche en argón. La mezcla se trató luego con disolución saturada acuosa de cloruro de amonio (~15 ml) y se agitó durante 4 horas. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con más diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y luego se concentraron hasta un aceite oscuro. Esto se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente 0-75% de acetato de etilo en hexano, para producir etil 1-metil-5-oxoprolinato como un aceite incoloro (0,27 g) que se utilizó en la etapa siguiente sin más purificación.

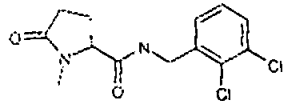
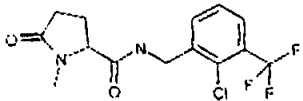
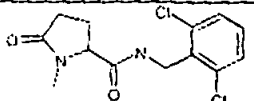
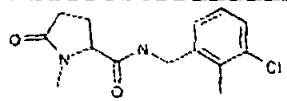
(ii) Se disolvió etil 1-metil-5-oxoprolinato (0,27 g, 1,58 mmol) en etanol (5 ml) y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esto se le añadió disolución acuosa de hidróxido sódico 2M (3 ml) y la mezcla se agitó durante ~4 horas a 0°C. El etanol se evaporó al vacío y el residuo acuoso se acidificó con cloruro de hidrógeno acuoso 2N hasta pH1. El volumen de la fase acuosa se redujo a ~3 ml a vacío y luego se extrajo con una mezcla 3:1 de cloroformo e isopropanol usando un-separador de fases. Las capas orgánicas combinadas se concentraron para proveer 1-metil-5-oxoprolina que se usó sin más purificación.

Ejemplos 84-90

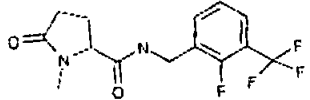
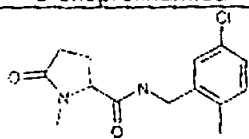
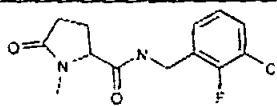
185

A su vez, y también en un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 70 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 7) se prepararon sustituyendo la 2-cloro-4-fluorobencitamina usada en el Ejemplo 70 por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 7 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario. Se sustituyó la 1-etil-5-oxoprolina utilizada en el Ejemplo 70 por 1-Metil-5-oxoprolina (preparada como se describió anteriormente para el ejemplo 81). Cuando se determina (por HPLC quiral), el exceso enantiómero (e.e.) del isómero que se muestra también se menciona con su nombre estereoespecífico, el método de separación quiral utilizado entre paréntesis y el tiempo de retención (r.t.) correspondiente en ese método.

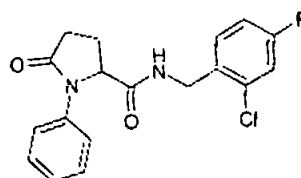
Tabla 7

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)	e.e.
E84	 <i>N</i> -((2,3-diclorofenil)metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	301	2,11	
E85	 <i>N</i> -((2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	335	2,27	94,1 % (A) <i>N</i> -((2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil)-1-metil-5-oxo-D-prolinamida r.t.=5,17 min
E86	 <i>N</i> -((2,6-diclorofenil)metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	301	1,98	
E87	 <i>N</i> -((3-cloro-2-metilfenil)metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	281	2,11	

188

Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)	e.e.
E88	 <i>N</i> -([2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	319	2,16	
E89	 <i>N</i> -([5-cloro-2-metilfenil]metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	281	2,1	
E90	 <i>N</i> -([3-cloro-2-fluorofenil]metil)-1-metil-5-oxoprolinamida	285	1,98	

Ejemplo 91 *N*-([2-cloro-4-fluorofenil]metil)-5-oxo-1-fenil-prolinamida (E91)



- Se disolvió 5-oxo-1-fenil-prolina (0,072 g, 0,35 mmol, preparada como se describe a continuación) en diclorometano (~2 ml) y dimetilformamida (0,5 ml), y a esto se le añadieron hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,081 g, 0,42 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,057 g, 0,42 mmol) y *N*-etil morfolina (0,134 ml, 1,05 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se añadió ([2-cloro-4-fluorofenil]metil)amina (0,067 g, 0,42 mmol). Se siguió agitando durante una noche a temperatura ambiente y la mezcla se diluyó con más diclorometano y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa acuosa se separó y se extrajo adicionalmente con más diclorometano (3 alícuotas). Las capas orgánicas combinadas se lavaron luego con salmuera antes de secarse sobre sulfato de magnesio. La evaporación del disolvente produjo un aceite amarillo que se purificó por HPLC automática dirigida a masas. Finalmente, la trituración del material así obtenido con una mezcla 1:1 de diclorometano y éter dietílico produjo, después de la filtración y el secado, *N*-([2-cloro-4-fluorofenil]metil)-5-oxo-1-fenil-prolinamida pura (0,031 g) como un sólido blanco. LC/MS $[M+H]^+$ = 347, tiempo de retención = 2,46

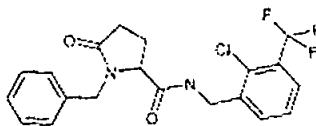
minutos.

La 5-oxo-1-fenil-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

(i) Se disolvió éster etílico del ácido D-piroglutámico (0,200 g, 1,27 mmol) en dioxano (5 ml) y se trató con tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (0,058 g, 0,06 mmol), bromobenceno (0,351 ml, 1,53 mmol), carbonato de cesio (0,621 g, 1,91 mmol) y Xantphos™ (0,110 g, 0,19 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante una noche y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con metanol y se filtró. El filtrado se evaporó al vacío y se repartió entre diclorometano y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa acuosa se extrajo con más diclorometano (3 alícuotas) y luego las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. La evaporación del disolvente produjo un residuo amarillo brillante que se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente 0-50% de acetato de etilo en hexano, para producir metil 5-oxo-1-fenilprolinato (0,078 g) como un aceite amarillo. Esto se utilizó en la siguiente etapa sin mayor purificación.

(ii) Se combinó metil 5-oxo-1-fenilprolinato (0,078 g, 0,36 mmol) con hidróxido de sodio acuoso 2N (2 ml) en etanol (2 ml) a 0°C. La mezcla se agitó entre -10°C y 0°C durante 5 horas. El disolvente se evaporó luego al vacío y el residuo se acidificó hasta pH1 por adición de cloruro de hidrógeno acuoso 2M. A esto se le añadió diclorometano y la mezcla se pasó a través de un separador de fases. La capa acuosa se lavó con más diclorometano y luego las capas de diclorometano combinadas se evaporaron para producir 5-oxo-1-fenil-prolina (0,072 g) como una goma amarilla que se usó sin purificación adicional en la etapa siguiente.

Ejemplo 92 *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)-prolinamida (E92)



Se disolvió 5-oxo-1-(fenilmetil)prolina (0,100 g, 0,46 mmol, preparada como se describe a continuación) en una mezcla de diclorometano (2,5 ml) y dimetilformamida (0,5 ml), y a esto se le añadieron hidrocloreuro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,105 g, 0,55 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,074 g, 0,55 mmol) y *N*-etil morfolina (0,143 ml, 1,37 mmol). La mezcla se agitó durante 10 minutos y luego se

añadió {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (0,115 g, 0,55 mmol), y la mezcla se agitó durante 1 h. Se añadió carbonato de hidrógeno sódico acuoso (10 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó con un separador de fases y la capa acuosa se lavó con más alícuotas de diclorometano (3 x 10 ml). Se reunieron las fracciones orgánicas y se secaron sobre sulfato de magnesio. El disolvente se evaporó luego y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)-D-prolinamida pura

LC/MS $[M+H]^+ = 411$, tiempo de retención = 2,77 minutos.

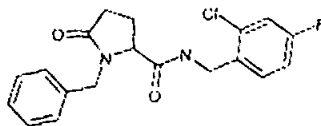
Exceso enantiomérico = 100,0%, según lo determinado por cromatografía quiral, método D, indicativo de *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)-D-prolinamida

tiempo de retención = 10,58 minutos

La 5-oxo-1-(fenilmetil)-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

Se disolvió ácido D-glutámico (1,47 g, 10 mmol) en hidróxido de sodio acuoso 2N (10 ml, 20 mmol) y se agitó durante 15 minutos. La mezcla se trató luego con una disolución de benzaldehído (1,1 ml, 10 mmol) en etanol (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se enfrió hasta 0°C y se trató con borohidruro de sodio (0,030 g). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente agitando durante 4 horas y luego se lavó con éter dietílico (tres veces) antes de acidificar con ácido clorhídrico concentrado hasta pH2. El precipitado resultante se separó por filtración y se lavó con éter dietílico antes de suspender en etanol y mezclar azeotrópicamente tres veces con más etanol. Finalmente, el resto del material se suspendió en etanol (50 ml) y se calentó a reflujo durante 16 horas. La mezcla se enfrió luego hasta temperatura ambiente y se evaporó al vacío. El secado proporcionó 5-oxo-1-(fenilmetil)prolina pura.

Ejemplo 93 *N*-{[2-cloro-4-fluorofenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)prolinamida (**E93**)



30

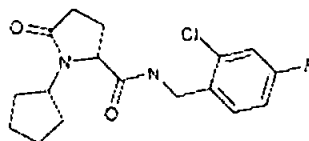
Se preparó *N*-{[2-cloro-4-fluorofenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)prolinamida en un modo análogo a aquel descrito para la síntesis de *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)prolinamida (Ejemplo 92) anterior, pero

189

usando [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina en lugar de {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina.

LC/MS $[M+H]^+ = 361$, tiempo de retención = 2,54 minutos.

Ejemplo 94 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-ciclopentil-5-oxoprolinamida (**E94**)



5

Se disolvió 1-ciclopentil-5-oxoprolina (0,100 g, 0,51 mmol, preparada como se describió anteriormente) en una mezcla de diclorometano (2,5 ml) y dimetilformamida (0,5 ml), y a esto se le añadió hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,117 g, 0,61 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,082 g, 0,61 mmol) y *N*-etil morfolina (0,2 ml, 1,52 mmol). La mezcla se agitó durante 10 minutos y luego se añadió [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,097 g, 0,61 mmol), y la mezcla se agitó durante toda la noche. Se añadió carbonato de hidrógeno sódico acuoso (10 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó con un separador de fases y la capa acuosa se lavó con más alícuotas de diclorometano (3 x 10 ml). Se reunieron las fracciones orgánicas y se secaron sobre sulfato de magnesio. El disolvente se evaporó luego y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-ciclopentil-5-oxoprolinamida pura.

LC/MS $[M+H]^+ = 339$, tiempo de retención = 2,4 minutos.

La 1-ciclopentil-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó como se describe a continuación:

(i) Se disolvió hidrocloreto de dimetil D-glutamato (2,1 g, 10,00 mmol) en metanol (7,5 ml) y tetrahidrofurano (15 ml), y la mezcla se trató con hidróxido de sodio triturado (0,402 g, 10,05 mmol) durante 20 minutos en argón. En esta etapa se añadieron ácido acético (0,575 ml, 10,05 mmol) y ciclopentanona (0,889 ml, 10,05 mmol) a la mezcla. Después de agitar durante 10 -15 minutos, la mezcla se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo y se trató con pelets de borohidruro de sodio (0,380 g, 10,05 mmol). La mezcla se agitó en una atmósfera de argón durante 3 horas y se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Una vez que la mezcla había alcanzado temperatura ambiente, se evaporó el metanol y el residuo se diluyó con diclorometano (20 ml) y se lavó con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (25 ml). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se retroextrajo con más diclorometano (2 x 20

30

790

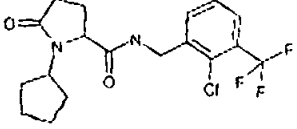
ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío para producir un aceite. El aceite se disolvió en tolueno (10 ml) y se calentó a reflujo durante una noche. El disolvente se evaporó luego y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna rápida sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 0-10% metanol en diclorometano, para proveer metil 1-ciclopentil-5-oxoprolinato bruto que se utilizó sin más purificación en la etapa siguiente.

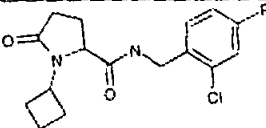
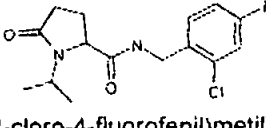
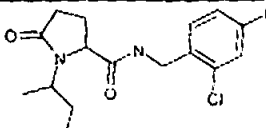
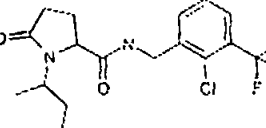
(ii) Se disolvió metil 1-ciclopentil-5-oxoprolinato (0,560 g, 2,65 mmol) en etanol (10 ml) y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. Se añadió hidróxido sódico acuoso 2M (5 ml) y la mezcla se agitó a la temperatura del hielo durante 4 horas. El etanol se evaporó luego al vacío y el residuo acuoso se acidificó hasta pH1 por la adición de cloruro de hidrógeno acuoso 2N. El volumen de la mezcla acuosa resultante se redujo a ~3 ml a vacío y luego se extrajo con una mezcla 3:1 de cloroformo e isopropanol respectivamente, usando un separador de fases. La capa acuosa se lavó con más diclorometano y luego las fracciones orgánicas combinadas se evaporaron para producir 1-ciclopentil-5-oxoprolina bruta que se usó sin purificación adicional en las reacciones subsiguientes.

Ejemplos 95-99

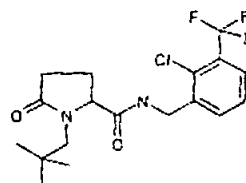
En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 94 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 8) se prepararon sustituyendo la [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina utilizada en el procedimiento anterior por la amina apropiada (o su sal) y/o sustituyendo la ciclopentanona utilizada en el procedimiento anterior por el aldehído o la cetona apropiada. Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 8 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario.

Tabla 8

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E95	 N-((2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil)-1-ciclopentil-5-oxoprolinamida	389	2,66

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E96	 <i>N</i> -((2-cloro-4-fluorofenil)metil)-1-ciclobutil-5-oxoprolinamida	325	2,35
E97	 <i>N</i> -((2-cloro-4-fluorofenil)metil)-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida	313	2,19
E98	 <i>N</i> -((2-cloro-4-fluorofenil)metil)-1-(1-metilpropil)-5-oxoprolinamida	327	2,35
E99	 <i>N</i> -((2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil)-1-(1-metilpropil)-5-oxoprolinamida	377	2,6

Ejemplo 100 *N*-((2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil)-1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolinamida (**E100**)



- 5 Se disolvió 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina (0,100 g, 0,5 mmol, preparada como se describe a continuación) en diclorometano (5 ml), y a esto se le añadieron hidrocloreuro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,191 g, 1 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (0,135 g, 1 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se añadió [[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina (0,209 g, 1 mmol) y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla se lavó luego en secuencias con agua, ácido cítrico acuoso 3N y tres veces más con agua, y luego se secó filtrando a través de un cartucho de hidromatriz (Varian

5 g). El disolvente se evaporó luego y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolinamida pura.

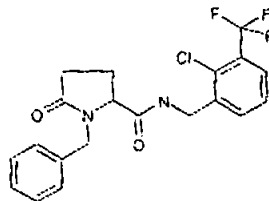
LC/MS $[M+H]^+ = 391/393$, tiempo de retención = 2,78 minutos.

5 La 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

Se disolvió ácido L-glutámico (1,47 g, 10 mmol) en hidróxido de sodio acuoso 2N (10 ml, 20 mmol) y se trató con una disolución de trimetilacetaldehído (1,09 ml, 10 mmol) en etanol (5 ml) y luego se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos.

10 La mezcla se enfrió hasta 0°C y se trató con borohidruro de sodio (0,130 g). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente agitando durante 4 horas y luego se acidificó hasta pH neutro. A la concentración al vacío le siguió la suspensión en etanol y la mezcla azeotrópica tres veces con más etanol. Finalmente, el material restante se suspendió en etanol (50 ml) y se calentó a reflujo durante 48 horas. La mezcla se
15 enfrió luego hasta temperatura ambiente, se filtraron las sales y el disolvente se evaporó al vacío para producir una goma. La trituración con éter dietílico, seguida de secado, produjo la 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina (1,1 g) sólida pura.

Ejemplo 101 *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)-prolinamida (E101)



20

Se preparó *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)-D-prolinamida en un modo análogo a aquel descrito para la síntesis de *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolinamida (ejemplo 100) anterior, pero usando 5-oxo-1-(fenilmetil)prolina en lugar de 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina.

25 LC/MS $[M+H]^+ = 411/413$, tiempo de retención = 2,77 minutos.

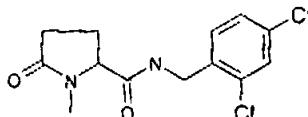
Exceso enantiomérico = 100,0%, según lo determinado por cromatografía quiral, método D, indicativo de *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(fenilmetil)-D-prolinamida

tiempo de retención = 8,09 minutos

30 Se preparó 5-oxo-1-(fenilmetil)prolina en un modo análogo a aquel descrito para la síntesis de 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina (ejemplo 100) pero usando

benzaldehído en lugar de trimetilacetaldehído.

Ejemplo 102 *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (**E102**)

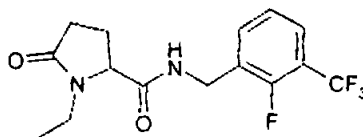


- 5 Se preparó *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para la síntesis de *N*-[[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (Ejemplo 83) pero se substituyó [[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metil]amina con [(2,4-diclorofenil)metil]amina.

LC/MS $[M+H]^+ = 300,9$, tiempo de retención = 2,13 minutos.

- 10 Exceso enantiomérico = 97,8%, según lo determinado por cromatografía quiral, método A, indicativo de *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-D-prolinamida
tiempo de retención = 6,25 minutos

Ejemplo 103 1-etil-*N*-[[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-5-oxoprolinamida (**E103**)



15

- Se preparó 1-etil-*N*-[[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-5-oxoprolinamida en un modo análogo a aquel descrito anteriormente (véase ejemplo 70) para *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-D-prolinamida pero usando 2-fluoro-3-trifluorometilbencilamina en lugar de 2-cloro-4-fluorobencilamina.

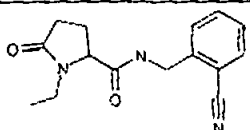
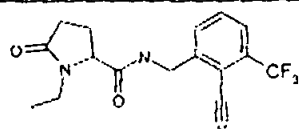
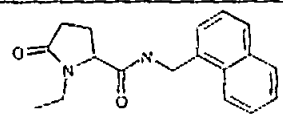
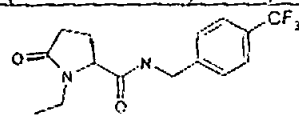
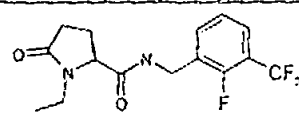
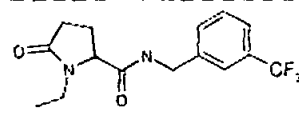
LC/MS $[M+H]^+ = 333$, tiempo de retención = 2,24 minutos.

Ejemplos 104-109

- Los ejemplos tabulados a continuación (Tabla 9) se prepararon en un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 12, substituyendo la [(2,3,4-trifluorofenil)metil]amina usada en el procedimiento descrito para el ejemplo 12 por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 9 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario. La 1-etil-5-oxo-prolina empleada para preparar estos ejemplos se preparó a su vez usando el método C descrito para el Ejemplo 12.

199

Tabla 9

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E104	 <i>N</i> -((2-cianofenil)metil)-1-etil-5-oxoprolinamida	272	1,63
E105	 <i>N</i> -([2-ciano-3-(trifluorometil)fenil]metil)-1-etil-5-oxoprolinamida	340	2,11
E106	 1-etil- <i>N</i> -(1-naftalenilmetil)-5-oxoprolinamida	297	2,17
E107	 1-etil-5-oxo- <i>N</i> -([4-(trifluorometil)fenil]metil)prolinamida	315	2,30
E108	 1-etil- <i>N</i> -([2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil)-5-oxoprolinamida	333	2,39
E109	 1-etil-5-oxo- <i>N</i> -([3-(trifluorometil)fenil]metil)prolinamida	315	2,34

El 2-(aminometil)-6-(trifluorometil)benzonitril trifluoroacetato requerido para la síntesis del ejemplo 105 se preparó de la siguiente manera:

- 5 (i) Se disolvió {[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (1,93 g, 10 mmol) en diclorometano (40 ml) y se trató con una disolución de bis(1,1-dimetiletil) dicarbonato (2,18 g, 10 mmol) en diclorometano (10 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, el disolvente se evaporó para proveer un sólido amarillo pálido que se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente 1:10-1:5 de acetato de etilo en hexanos, para obtener 1,1-dimetiletil {[2-
- 10

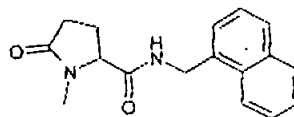
fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}carbamato puro (2 g).

- (ii) Se disolvió 1,1-dimetiletil {[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}carbamato (1,17 g, 4 mmol) en dimetilsulfóxido (5 ml) y se trató con cianuro de potasio (0,260 g, 4 mmol). La mezcla se calentó luego hasta temperatura ambiente a 80°C bajo argón durante 1,5 horas y después durante una noche a 120°C (16 horas). Se añadió luego cianuro de potasio adicional (0,260 g, 4 mmol) y se siguió calentando a 120°C durante otras 24 horas. La mezcla después se enfrió hasta temperatura ambiente, se enfrió rápidamente con agua y se diluyó con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se separaron y lavaron tres veces con agua y luego con disolución saturada acuosa de cloruro de sodio. El secado y la evaporación produjeron una goma marrón que se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente 1:10-1:5 de acetato de etilo en hexanos, para proveer 1,1-dimetiletil {[2-ciano-3-(trifluorometil)fenil]metil}carbamato parcialmente puro como un sólido/semisólido oscuro que se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

- 15 LC/MS $[M+H]^+ = 201$, tiempo de retención = 1,19 minutos.

- (iii) Se disolvió 1,1-dimetiletil {[2-ciano-3-(trifluorometil)fenil]metil}carbamato (0,190 g, 0,63 mmol) en diclorometano (4 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y luego se evaporó. El residuo se absorbió dos veces en diclorometano y se evaporó nuevamente para proveer trifluoroacetato de 2-(aminometil)-6-(trifluorometil)benzonitrilo, que se utilizó sin más purificación.

Ejemplo 110 1-metil-N-(1-naftalenilmetil)-5-oxoprolinamida (E110)



- 25 Se combinaron 1-metil-5-oxoprolina (0,050 g, 0,35 mmol, preparada en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para el ejemplo 51), hidrocloreto de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,081 g, 0,42 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,057 g, 0,42 mmol), N-etil morfolina (0,166 ml, 1,05 mmol) y (1-naftalenilmetil)amina en diclorometano (~8 ml), y la mezcla se agitó durante ~20 horas a temperatura ambiente. La mezcla se lavó luego con cloruro de hidrógeno acuoso 2M (5 ml) y la capa orgánica se separó usando un separador de fases. La capa orgánica se lavó con carbonato de hidrógeno sódico, se separó como antes y luego se evaporó. El residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer 1-metil-N-(1-

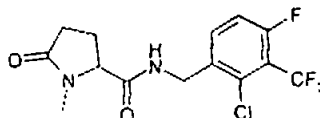
Yab

naftalenilmetil)-5-oxoprolinamida pura (0,062 g) como un sólido blanco.

LC/MS $[M+H]^+ = 283$, tiempo de retención = 2,1 minutos.

Ejemplo 111

N-{[2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-metil-5-oxoprolinamida (**E111**)



5

Se disolvió 1-metil-5-oxoprolina (0,057 g, 0,4 mmol, preparada en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para el ejemplo 51) en diclorometano (4 ml) y se trató con 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina (0,104 g, 0,42 mmol). Se añadió luego hidrocloreto de {[2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (0,105 g, 0,4 mmol, preparado como se describe a continuación), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se trató con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (10 ml) y se agitó durante 5 minutos. La fase orgánica se separó usando una frita hidrófoba y luego se lavó con cloruro de hidrógeno acuoso 2N (2 x 10 ml). La evaporación de la fase orgánica produjo entonces *N*-{[2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-metil-5-oxoprolinamida pura (0,106 g).

LC/MS $[M+H]^+ = 353$, tiempo de retención = 2,49 minutos.

El hidrocloreto de {[2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina utilizado en el método descrito anteriormente se preparó de la siguiente manera:

(i) Se disolvió 1-cloro-3-fluoro-2-(trifluorometil)benceno (10 g, 50 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se enfrió hasta -70°C en argón y se trató con una disolución 1,4M de sec-butil-litio en ciclohexano (37,5 ml, 52,5 mmol). Se siguió agitando durante 2 horas y luego se añadió cloruro de trimetilsililo (6,7 ml, 52,5 mmol) y se siguió agitando, incluso a -70°C , por otra hora más. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se quitó el tetrahidrofurano al vacío. El residuo se repartió entre éter dietílico y agua, y luego la capa orgánica se separó y se lavó con cloruro de hidrógeno acuoso 2N. La fase orgánica se separó y concentró para proveer el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice, eluyendo con hexano, para proveer [4-cloro-2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil](trimetil)silano puro como un aceite claro (10,35 g).

(ii) Se añadió lentamente 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (3,3 ml, 19,44 mmol) a una disolución de *n*-butil-litio (2,5M en tolueno, 7,7 ml, 19,44 mmol) en tetrahidrofurano (75 ml) a -75°C en argón y se agitó durante 15 minutos. Se añadió luego gota a gota

una disolución de [4-cloro-2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil](trimetil)silano (5 g, 18,5 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) a la mezcla, asegurando que la temperatura de la mezcla se mantuviese debajo de -65°C, y se siguió agitando durante 2 horas. El dióxido de carbono sólido en exceso, que había sido previamente lavado con tetrahidrofurano a -65°C, se añadió en gránulos y la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se redujo al vacío para proveer un sólido amarillo pálido. Este material se repartió entre agua, que se había acidificado hasta pH1 (200 ml), y éter dietílico (200 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico anhidro. La evaporación produjo un sólido marrón pálido que se recrystalizó a partir de tolueno para proveer ácido 2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)-5-(trimetilsilil)benzoico puro (3,85 g, en 3 partidas) como agujas blancas.

LC/MS [M-H]⁺ 312, tiempo de retención = 3,29 minutos.

(iii) Una disolución de fluoruro de potasio (0,367 g, 9,55 mmol) en agua (15 ml) se añadió a una disolución de ácido 2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)-5-(trimetilsilil)benzoico (1 g, 3,18 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) y la mezcla se agitó a 100°C durante una noche. Se añadió una parte alícuota adicional de agua (15 ml) y fluoruro de potasio (0,370 g, 9,62 mmol) y se siguió calentando a 100°C por otras 4 horas. El tetrahidrofurano se evaporó al vacío y se reemplazó con suficiente dimetilformamida para disolver todos los sólidos. La mezcla se calentó durante una noche a 100°C pero el material partida todavía permaneció, de modo que se añadió más fluoruro de potasio (0,367 g, 9,55 mmol) y se siguió calentando a 100°C durante 7 días. En esta etapa, prácticamente todo el material de partida había desaparecido, de modo que la reacción se evaporó hasta secarse al vacío y se absorbió en cloruro de hidrógeno acuoso 2N (75 ml) y éter dietílico (50 ml). La capa acuosa se separó y extrajo con más éter dietílico (2 x 50 ml) y luego las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron para obtener el producto bruto como un sólido blanco. Éste se purificó por recrystalización a partir de tolueno para obtener el ácido 2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)benzoico puro (0,566 g) como un sólido blanco.

(iv) Se agitaron juntos ácido 2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)benzoico (0,560 g, 2,31 mmol), amonio 1*H*-1,2,3-benzotriazol-1-olato (0,534 g, 3,47 mmol, preparado como se describe a continuación), hidrocloreto de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,643 g, 3,47 mmol), y N-etil morfolina (0,594 ml, 4,62 mmol) en diclorometano (30 ml) por un total de 3 horas. Se añadió carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (30 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. La capa

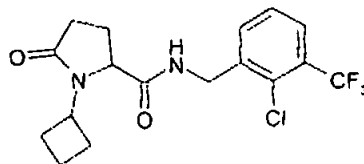
orgánica se separó usando una frita hidrófoba y luego se lavó con cloruro de hidrógeno acuoso 2N (2 x 50 ml). La separación de la capa orgánica, nuevamente usando una frita hidrófoba, y la evaporación al vacío produjeron 2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)benzamida (0,493 g) como un sólido blanquecino que se utilizó sin purificación adicional en la etapa subsiguiente.

El amonio 1*H*-1,2,3-benzotriazol-1-olato empleado en la etapa anteriormente descrita se preparó de la siguiente manera:

Se añadió lentamente hidróxido de amonio (4,15 ml, 75 mmol) a una disolución de 1-hidroxibenzotriazol (10 g, 74 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) a 0°C (baño de hielo) y se agitó durante 2 horas. La filtración y el lavado con tetrahidrofurano produjeron amonio 1*H*-1,2,3-benzotriazol-1-olato (10,57 g) como un sólido blanco.

(v) Se trató 2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)benzamida (0,490 g, 2,03 mmol) con borano 1M en tetrahidrofurano (20,33 ml, 20,33 mmol) y se agitó a 60°C durante una noche. La mezcla se trató luego con cloruro de hidrógeno acuoso 2N hasta que cesó la evolución de gas a 100°C durante 2 horas. La mezcla se redujo al vacío y el residuo se absorbió en un mínimo de agua y se lavó con diclorometano (30 ml). El pH de la capa acuosa se ajustó hasta pH11 por adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio 2N, y luego se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml). Las capas de diclorometano se separaron usando una frita hidrófoba, se combinaron y evaporaron al vacío para dejar un aceite amarillo pálido. Se añadió una disolución 1M de cloruro de hidrógeno en éter dietílico (3 ml, 3 mmol) y el sólido blanco resultante se filtró para obtener hidrocloreto de {[2-cloro-4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina puro (0,210 g) que se usó sin más purificación.

Ejemplo 112 *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-ciclobutil-5-oxoprolinamida (E112)



Se suspendió 1-ciclobutil-5-oxoprolina (0,238 g, 0,82 mmol) en diclorometano (3 ml) y a esto se le añadieron hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,188 g, 0,98 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,132 g, 0,98 mmol) y *N*-etil morfolina (0,313 ml, 2,46 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se añadió {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (0,205 g, 0,98 mmol) a la mezcla y se siguió agitando a temperatura ambiente ~20

199

horas. La mezcla se diluyó luego con más diclorometano y se trató con carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa de diclorometano se separó y la capa acuosa se extrajo con 3 alícuotas más de diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y luego con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio y se evaporaron al vacío para obtener el producto bruto. Esto se purificó adicionalmente por HPLC automática dirigida a masas para proveer *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-ciclobutil-5-oxoprolinamida pura (0,105 g) como un sólido blanco.

LC/MS $[M+H]^+ = 375$, tiempo de retención = 2,53 minutos.

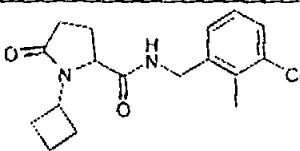
- 10 La 1-ciclobutil-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó en un modo análogo a aquel descrito previamente para la síntesis de metil 1-etil-5-oxoprolinato (véase el ejemplo 3) pero usando ciclobutanona en lugar de acetaldehído y con la adición de una etapa de desprotección de éster subsiguiente (usando condiciones convencionales, es decir, hidróxido de sodio en metanol) (en oposición a
15 la desprotección y acoplamiento de amida combinadas que se describen en el ejemplo 3).

Ejemplos 113-117

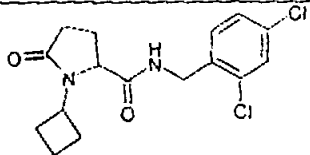
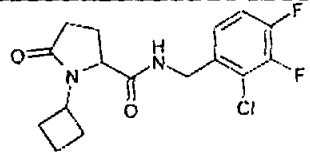
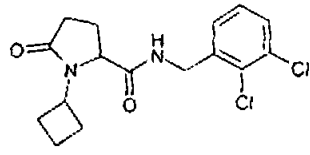
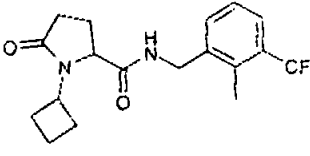
- En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 112 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 10) se prepararon sustituyendo la {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina usada en el procedimiento anterior por la amina apropiada (o su sal). Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 10 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario.

25

Tabla 10

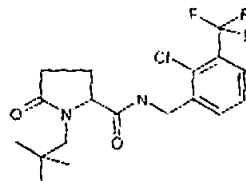
Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)
E 113	 <i>N</i> -[(3-cloro-2-metilfenil)metil]-1-ciclobutil-5-oxoprolinamida	321	2,39

200

Ejemplo no.	Nombre químico	[M+H] ⁺	Tiempo de retención (min)
E114	 1-ciclobutil- <i>N</i> -((2,4-diclorofenil)metil)-5-oxoprolinamida	341	2,46
E115	 <i>N</i> -((2-cloro-3,4-difluorofenil)metil)-1-ciclobutil-5-oxoprolinamida	343	2,32
E116	 1-ciclobutil- <i>N</i> -((2,3-diclorofenil)metil)-5-oxoprolinamida	341	2,38
E117	 1-ciclobutil- <i>N</i> -((2-metil-3-(trifluorometil)fenil)metil)-5-oxoprolinamida	355	2,51

El hidrocloreuro de [(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]amina requerido para la síntesis de *N*-[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-ciclobutil-5-oxoprolinamida (Ejemplo 115) se preparó como se describió anteriormente para el ejemplo 36.

5 Ejemplo 118 *N*-[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolinamida (E118)



Se preparó *N*-[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolinamida en un modo análogo a aquel descrito para el ejemplo 100, pero
 10 usando la 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina preparada como se describe a continuación.

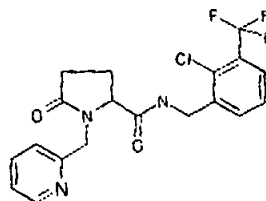
201

LC/MS $[M+H]^+ = 391/393$, tiempo de retención = 2,76 minutos.

La 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

Se disolvió ácido D-glutámico (2,21 g, 15 mmol) en hidróxido de sodio acuoso 2N (15 ml, 30 mmol), se enfrió hasta 0°C y se trató con una disolución de trimetilacetaldehído (1,63 ml, 15 mmol) en etanol (3 ml), y luego se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La mezcla se enfrió nuevamente hasta 0°C y se trató con porciones de borohidruro de sodio (0,189 g, 5 mmol). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente agitando durante 4 horas y luego se lavó con éter dietílico hasta ~pH4 usando ácido clorhídrico concentrado. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico y luego se secó en un horno de vacío durante una noche. El sólido se suspendió luego en etanol (50 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante 24 horas. La concentración y trituración con hexano produjeron entonces 1-(2,2-dimetilpropil)-5-oxoprolina (1,51 g) como un sólido que se usó sin más purificación.

Ejemplo 119
N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-5-oxo-1-(2-piridinilmetil)prolinamida (E119)



Se agitaron juntos 5-oxo-1-(2-piridinilmetil)prolina (0,220 g, 1 mmol, preparada como se describe a continuación), hidrocloreuro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,384 g, 2 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (0,308 g, 2 mmol) en diclorometano (10 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se trató con [[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina (0,314 g, 1,5 mmol) y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y se repartió entre acetato de etilo y disolución saturada acuosa de carbonato de hidrógeno sódico. La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo, y luego las fracciones de acetato de etilo combinadas se lavaron con 3 porciones de agua y luego con disolución saturada acuosa de cloruro de sodio. El secado sobre sulfato de sodio y la concentración produjeron un residuo sólido que se purificó por HPLC automática dirigida a masas para obtener N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-5-oxo-1-(2-piridinilmetil)prolinamida (0,263 g) como un sólido de color amarillo.

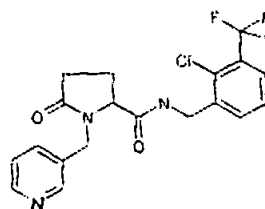
902

LC/MS $[M+H]^+ = 412/414$, tiempo de retención = 2,15 minutos.

La 5-oxo-1-(2-piridinilmetil)-prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

Se disolvió ácido D-glutámico (2,21 g, 15 mmol) en hidróxido de sodio acuoso 2N (15 ml, 30 mmol) a 0°C y luego se trató con piridina-2-carboxaldehído (1.43 ml, 15 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos y luego se enfrió hasta 0°C y se trató con borohidruro de sodio (0,189 g, 5 mmol). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente agitando durante 4 horas y luego se lavó dos veces con éter dietílico y se acidificó hasta pH6. La capa acuosa se concentró, luego se mezcló azeotrópicamente tres veces con tolueno y luego con una mezcla 1:1 de etanol:tolueno y finalmente con etanol. El residuo se absorbió luego en etanol (50 ml) y se sometió a reflujo durante 8 horas. La concentración proporcionó un aceite que cuando se secó al vacío produjo 5-oxo-1-(2-piridinilmetil)prolina (2,60 g) como una espuma que se utilizó sin ninguna purificación adicional.

Ejemplo 120 *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolinamida (**E120**)



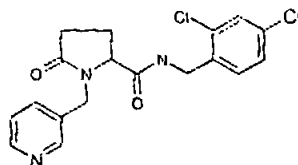
Se agitaron juntos hidrocloreto de 5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolina (0,210 g, 1 mmol, preparado como se describe a continuación), hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,383 g, 2 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (0,306 g, 2 mmol) en diclorometano (10 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se trató con {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (0,314 g, 1,5 mmol) y se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y se repartió entre acetato de etilo y carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso. La capa acuosa se separó y se extrajo con más acetato de etilo, y luego las fracciones de acetato de etilo combinadas se lavaron en secuencias con 3 porciones de agua y luego con disolución saturada acuosa de cloruro de sodio. El secado sobre sulfato de sodio y la concentración produjeron un residuo sólido que se purificó por HPLC automática dirigida a masas para obtener *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolinamida (0,031 g).

LC/MS $[M+H]^+ = 412/414$, tiempo de retención = 1,83 minutos.

La 5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

Se disolvió ácido D-glutámico (2,21 g, 15 mmol) en hidróxido de sodio acuoso 2N (15 ml, 30 mmol) a 0°C y luego se trató con piridina-3-carboxaldehído (1,41 ml, 15 mmol) en etanol (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se enfrió hasta 0°C y se trató con porciones de borohidruro de sodio (0,189 g, 5 mmol). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente agitando durante 4 horas y, luego de lavar con éter dietílico, se acidificó hasta pH5-6 usando ácido clorhídrico concentrado. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó al vacío. Este material se absorbió en etanol (50 ml) y se mantuvo a reflujo durante una noche. Los sólidos finos se eliminaron por filtración y luego la concentración proporcionó 5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolina (2,04 g) como un sólido blanco que se utilizó sin purificación adicional.

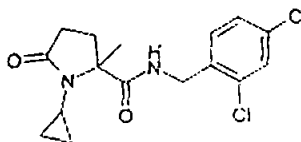
Ejemplo 121 *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolinamida (E121)



Se preparó *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolinamida en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para la síntesis de *N*-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-5-oxo-1-(3-piridinilmetil)prolinamida (E120) pero usando [(2,4-diclorofenil)metil]amina en lugar de [[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina.

LC/MS $[M+H]^+$ = 378/380382, tiempo de retención = 1,70 minutos.

Ejemplo 122 1-ciclopropil-*N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-2-metil-5-oxoprolinamida (E122)



A una disolución de (2,4-diclorofenil)metil isocianuro (0,047 g, 0,25 mmol) y ácido levulínico (0,041 ml, 0,4 mmol) en metanol (2 ml) se le añadió ciclopropilamina (0,042 ml, 0,6 mmol). La mezcla se calentó en un microondas a 100°C durante 30 minutos. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para dar 1-ciclopropil-*N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-2-metil-5-

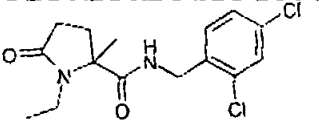
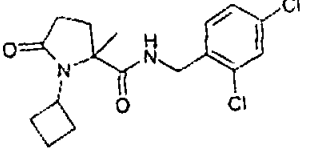
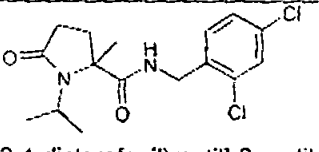
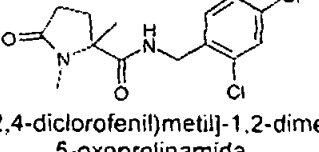
oxoprolinamida (0,054 g) como un sólido blanco.

LC/MS $[M+H]^+ = 341/343$, tiempo de retención = 2,57 minutos.

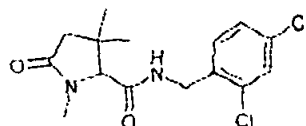
Ejemplos 123-126

En un modo análogo a aquel descrito para el Ejemplo 122 anterior, los compuestos tabulados a continuación (Tabla 11) se prepararon sustituyendo la ciclopropilamina usada en el procedimiento anterior por la amina apropiada. Todas las aminas utilizadas para elaborar los compuestos que se muestran en la Tabla 11 son comercializadas por fuentes comerciales o se pueden preparar usando las rutas previamente descritas en la bibliografía química, a menos que se indique lo contrario.

Tabla 11

Ejemplo no.	Nombre químico	$[M+H]^+$	Tiempo de retención (min)
E123	 <i>N</i> -((2,4-diclorofenil)metil)-1-etil-2-metil-5-oxoprolinamida	329	2,49
E124	 1-ciclobutil- <i>N</i> -((2,4-diclorofenil)metil)-2-metil-5-oxoprolinamida	355/357	2,78
E125	 <i>N</i> -((2,4-diclorofenil)metil)-2-metil-1-(1-metiletil)-5-oxoprolinamida	343/345	2,64
E126	 <i>N</i> -((2,4-diclorofenil)metil)-1,2-dimetil-5-oxoprolinamida	315	2,39

Ejemplo 127 *N*-((2,4-diclorofenil)metil)-1,3,3-trimetil-5-oxoprolinamida (E127)



A una disolución de (2,4-diclorofenil)metil isocianuro (0,094 g, 0,5 mmol) y ácido 3,3-dimetil-4-oxobutanoico (0,065 mg, 0,5 mmol, preparada como se describió anteriormente) en metanol (2 ml) se le añadió metilamina (0,080 ml, disolución al 33% en etanol). La mezcla se calentó en un microondas a 100°C durante 30 minutos. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por HPLC automática dirigida a masas para proveer una goma incolora que se trituró con éter dietílico para dar *N*-((2,4-diclorofenil)metil)-1,3,3-trimetil-5-oxoprolinamida como un sólido blanco pegajoso (0,043 g).

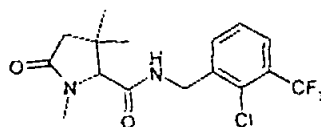
LC/MS $[M+H]^+ = 329/331$, tiempo de retención = 2,42 minutos.

10 El ácido 3,3-dimetil-4-oxobutanoico empleado en el procedimiento anterior se preparó de la siguiente manera:

Se disolvió ácido 3,3-dimetil-4-pentenoico (1,3 g, 10,14 mmol) en diclorometano (25 ml) y se enfrió hasta -78°C en un baño de CO₂/acetona. Se burbujeó oxígeno a través de la mezcla durante 5 minutos seguido por ozono durante 15 25 minutos (obteniendo una disolución azul). Se burbujeó oxígeno a través de la mezcla durante otros 5 minutos seguido por argón durante 10 minutos. Luego se añadió dimetilsulfuro (2,23 ml, 30,4 mmol) a la mezcla, y ésta se eliminó del baño de enfriamiento y se agitó durante 2,5 horas. La disolución incolora resultante se redujo al vacío para proveer ácido 3,3-dimetil-4-oxobutanoico como un aceite incoloro que se usó sin más purificación.

Ejemplo 128
oxoprolinamida (E128)

N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1,3,3-trimetil-5-



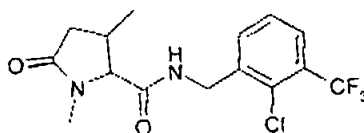
25 Se preparó *N*-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1,3,3-trimetil-5-oxoprolinamida en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para la síntesis de *N*-((2,4-diclorofenil)metil)-1,3,3-trimetil-5-oxoprolinamida (E127) pero usando [2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil isocianuro (preparado como se describió en el ejemplo 40) en lugar de (2,4-diclorofenil)metil isocianuro.

30 LC/MS $[M+H]^+ = 363/365$, tiempo de retención = 2,49 minutos.

Ejemplo 129
oxoprolinamida (E129)

N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1,3-dimetil-5-

706



Se combinaron 1,3-dimetil-5-oxoprolina (0,620 g, 3,6 mmol, preparada como se describe a continuación), hidrocloreto de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,822 g, 4,3 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (0,581 g, 4,3 mmol), N-etil morfolina (1,4 ml, 10,8 mmol) y {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}amina (0,828 g, 3,96 mmol) en una mezcla de diclorometano (10 ml) y dimetilformamida (5 ml), y se agitó en argón durante una noche. La mezcla se lavó luego en secuencias con agua (50 ml), cloruro de hidrógeno acuoso 0,5 N (50 ml), agua (50 ml), carbonato de hidrógeno sódico saturado acuoso (50 ml) y agua (50 ml). La capa de diclorometano se pasó a través de una frita hidrófoba y se evaporó al vacío para dar el producto bruto. Esto se purificó adicionalmente por HPLC automática dirigida a masas para proveer N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1,3-dimetil-5-oxoprolinamida pura (0,613 g).

LC/MS $[M+H]^+ = 349$, tiempo de retención = 2,31, 2,38 minutos.

La 1,3-dimetil-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó como se describe a continuación:

- (i) Se trató (R,R,R)-2-hidroxi-pinen-3-ona (10,9 g, 64,8 mmol) y éster glicina-t-butilico (13 g, 97,2 mmol) en tolueno anhidro (200 ml) con trifluoruro de boro-dietil eterato (0,460 g, 3,24 mmol) y luego se calentó, en argón, durante 6 horas a reflujo.
- 2(i) Luego se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La filtración a través de un filtro sinterizado, seguida por evaporación, proporcionó una goma amarilla que se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice (usando Biotage SP4), eluyendo con una mezcla de acetato de etilo al 25% en hexano, para proporcionar algo de 1,1-dimetiletil N-[(1R,2R,5R)-2-hidroxi-2,6,6-trimetilbiciclo[3.1.1]hept-3-ilideno]glicinato puro (3,68 g) y algunas fracciones mixtas. El material impuro se purificó adicionalmente, nuevamente usando cromatografía en columna automática rápida sobre gel de sílice (Biotage SP4), pero eluyendo con un gradiente de 0-25% acetato de etilo en hexano (0-15% en 10 volúmenes de columna 10 y 15-25% en 5 volúmenes de columna), para dar otra cosecha de 1,1-dimetiletil N-[(1R,2R,5R)-2-hidroxi-2,6,6-trimetilbiciclo[3.1.1]hept-3-ilideno]glicinato puro (1,73 g). Las dos partidas de 1,1-dimetiletil N-[(1R,2R,5R)-2-hidroxi-2,6,6-trimetilbiciclo[3.1.1]hept-3-ilideno]glicinato puro se combinaron (5,41 g) y este material se usó en la etapa siguiente.

207

(Nota: El éster glicina-t-butilico utilizado anteriormente podría también reemplazarse con hidrócloruro de éster glicina-t-butilico y un equivalente molar de carbonato de potasio.

(ii) Se enfrió una disolución de 1,1-dimetiletil *N*-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hidroxi-2,6,6-trimetilbicyclo[3.1.1]hept-3-ilideno]glicinato (11,05 g, 39,3 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (100 ml) hasta -30°C y se trató con una disolución 3M de bromuro de metilmagnesio en éter dietílico (17,1 ml, 51,1 mmol). Se añadió luego 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (7,78 g, 51,1 mmol) y la mezcla se agitó por 20 minutos más a -30°C. La mezcla se trató luego con crotonato de etilo y se siguió agitando durante 1 hora. La mezcla se enfrió rápidamente por adición de disolución saturada acuosa de cloruro de amonio (35 ml) y luego se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para proveer un aceite amarillo. Este material se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre gel de sílice (usando Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 0-20% (en 5 volúmenes de columna) luego 20-35% (en 14 volúmenes de columna) acetato de etilo en hexano, para dar 1-(1,1-dimetiletil) 5-etil *N*-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hidroxi-2,6,6-trimetilbicyclo[3.1.1]hept-3-ilideno]-3-metilglutamato (4,2 g) que se usó en la etapa siguiente.

(iii) Se añadió una disolución al 10% acuosa de ácido cítrico (11 ml, 5,6 mmol) a una disolución de 1-(1,1-dimetiletil) 5-etil *N*-[(1*R*,2*R*,5*R*)-2-hidroxi-2,6,6-trimetilbicyclo[3.1.1]hept-3-ilideno]-3-metilglutamato (2g) en tetrahidrofurano (10 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. La mezcla se evaporó y el residuo se suspendió en agua (50 ml) y se lavó con éter dietílico (100 ml). La fase acuosa se ajustó luego hasta pH~7 usando disolución acuosa de carbonato de hidrógeno sódico y luego se extrajo con éter dietílico (3 x 100 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para proveer 1-(1,1-dimetiletil) 5-etil 3-metilglutamato (1,1 g) como un aceite amarillo que se utilizó en la etapa siguiente sin más purificación.

(iv) Se dejó reposar 1-(1,1-dimetiletil) 5-etil 3-metilglutamato (1,1 g, 4,5 mmol), se unió a una línea de alto vacío durante una noche y luego durante un fin de semana. El material de partida era aún evidente en esta etapa, de modo que se añadió tolueno (30 ml) y la mezcla resultante se calentó a 110°C durante una noche. La evaporación proporcionó 1,1-dimetiletil 3-metil-5-oxoprolinato (0,79 g) que se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

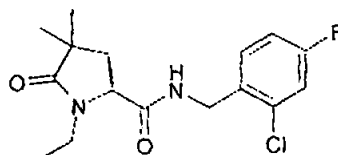
(v) Se disolvió 1,1-dimetiletil 3-metil-5-oxoprolinato (0,79 g, 3,96 mmol) en

708

tetrahidrofurano (8 ml) y se trató con yoduro de metilo (0,27 ml, 4,36 mmol). La mezcla se enfrió luego hasta 0°C y se trató con porciones de hidruro de sodio (60% en aceite, 0,170 g, 4,36 mmol). La mezcla dejó de burbujear después de 30 minutos a 0 °C y después se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La
 5 mezcla se enfrió rápidamente por adición de disolución saturada acuosa de cloruro de amonio (10 ml) y la capa orgánica se separó y apartó. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 20 ml) y después los extractos combinados se secaron usando una frita hidrófoba. Todas las fracciones orgánicas (incluyendo la parte apartada previamente) se combinaron y evaporaron para producir 1,1-dimetiletil 1,3-dimetil-5-oxoprolinato
 10 bruto (0,770 g) como una goma amarilla que se usó sin más purificación.

(vi) Se suspendió 1,1-dimetiletil 1,3-dimetil-5-oxoprolinato (0,770 g, 3,62 mmol) en diclorometano (5 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (0,4 ml, 5,4 mmol). La mezcla se agitó durante 5 horas y después se evaporó. La mezcla azeotrópica del residuo resultante con tolueno produjo entonces el material de partida sin reaccionar
 15 (0,600 g). Éste se absorbió nuevamente en diclorometano (2 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (2 ml) una vez más. Después de agitar durante 2 horas, la mezcla se evaporó y el residuo se mezcló azeotrópicamente de nuevo con tolueno (10 ml) para dar 1,3-dimetil-5-oxoprolina bruta (0,760 g) que se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 130 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida
 20 (E130)



Se disolvieron 1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolina (0,130 g, 0,702 mmol, preparada como se describe a continuación), 1-hidroxibenzotriazol (0,161 g, 1,053 mmol) e hidrocioruro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (0,202 g, 1,053 mmol) en
 25 diclorometano (5 ml), y se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron luego [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina (0,134 g, 0,842 mmol) y diisopropiletilamina (0,184 ml, 1,053 mmol) a la mezcla y se siguió agitando durante toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla se concentró luego al vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo y agua, y se extrajo con acetato de etilo. Las
 30 capas orgánicas combinadas se lavaron en secuencias con ácido cítrico 3N, agua, carbonato sódico saturado acuoso, agua (x3) y luego salmuera, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. La concentración produjo un sólido bruto que se purificó

209

posteriormente por HPLC automática dirigida a masas para dar *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida (0,146 g) como un sólido. LC/MS $[M+H]^+ = 327/329$, tiempo de retención = 2,35 minutos.

La 1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolina utilizada en el procedimiento anterior se preparó como se describe a continuación:

(i) Se disolvió (S)-(+)-L-5-tritiloximetil-2-pirrolidinona (7,51 g, 20 mmol) en dimetilformamida (25 ml) a 0°C y se trató con porciones de borohidruro de sodio (suspensión al 60% en aceite, 0,880 g, 22 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora y después se trató con yoduro de etilo (1,78 ml, 22 mmol). La mezcla se dejó calentar nuevamente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se vertió luego en hielo y se extrajo con acetato de etilo (x3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron en secuencias con agua, disolución acuosa de cloruro de sodio al 50% (3x) y disolución saturada acuosa de cloruro de sodio, y luego se secaron sobre sulfato de sodio. La concentración proporcionó un sólido bruto que se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre gel de sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano, para producir 1-etil-5-[[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona pura (7,09 g).

(ii) Se añadió una disolución 2M de diisopropilamina de litio en tetrahidrofurano (1,912 ml, 3,82 mmol), a -78°C, a una disolución de 1-etil-5-[[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona (1,34 g, 3,48 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 1 h a -78°C. Se añadió luego yodometano (0,239 ml, 3,82 mmol) y, después de agitar durante una hora más a -78°C, la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla se volvió a enfriar hasta -78°C y se trató, gota a gota, con otra parte alícuota de una disolución 2M de diisopropilamida de litio en tetrahidrofurano (1,912 ml, 3,82 mmol). Después de agitar por una hora más a -78°C, la mezcla se trató nuevamente con yodometano (0,239 ml, 3,82 mmol) y luego la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mezcla se enfrió rápidamente con cloruro de amonio saturado acuoso y luego se extrajo con acetato de etilo (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron luego con agua (3x) y después con disolución saturada acuosa de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron hasta obtener un sólido oleoso bruto (1,7 g). El sólido bruto se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre gel de sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexano, para proveer las fracciones de producto bruto (es decir, 1-etil-3,3-dimetil-5-[[[trifenilmetil]oxi]metil]-2-pirrolidinona (0,468 g)) como

AP

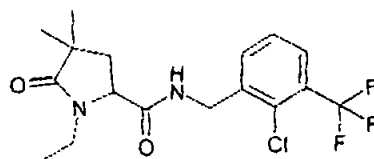
también material monoalquilado bruto (es decir, 1-etil-3-metil-5-(((trifenilmetil)oxi)metil)-2-pirrolidinona (0,524 g)) y una mezcla de estos dos (0,240 g). El producto deseado se apartó mientras se combinaban 1-etil-3-metil-5-(((trifenilmetil)oxi)metil)-2-pirrolidinona y el material mixto, y se disolvió en tetrahidrofurano (20 ml). Esta disolución se añadió luego gota a gota a una disolución 2M de diisopropilamida de litio en tetrahidrofurano (1,912 ml, 3,82 mmol) a -78°C y se siguió agitando a esta temperatura durante 1 h. Se añadió luego yodometano (0,239 ml, 3,82 mmol) a la mezcla, y ésta se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante 4 horas. El tratamiento según lo anteriormente descrito produjo una partida adicional de 1-etil-3,3-dimetil-5-(((trifenilmetil)oxi)metil)-2-pirrolidinona (0,846 g) como un aceite que se combinó con el material previamente apartado (masa total = 1,08 g) y se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

(iii) Se lavó Amberlyst 15® (5,56 g, 26,1 mmol) tres veces con metanol y luego se añadió una disolución de 1-etil-3,3-dimetil-5-(((trifenilmetil)oxi)metil)-2-pirrolidinona (1,08 g, 2,61 mmol) en metanol (50 ml). La mezcla se dejó en reposo durante 4 días a temperatura ambiente y luego se quitó la resina por filtración (lavando con metanol). Las fracciones de metanol combinadas se concentraron para dar un aceite bruto (1,62 g) que se purificó por cromatografía automática en columna rápida sobre gel de sílice (Biotage SP4), eluyendo con un gradiente 0-100% de acetato de etilo en hexano, para obtener 1-etil-5-(hidroximetil)-3,3-dimetil-2-pirrolidinona pura (0,376 g) como un aceite que se solidificó en reposo.

(iv) Se combinaron 1-etil-5-(hidroximetil)-3,3-dimetil-2-pirrolidinona (0,366 g, 2,1 mmol), clorito de sodio (0,387 g, 4,3 mmol) y disolución acuosa tampón monobásica de sodio 1M (2,46 ml, 2,46 mmol) en acetonitrilo (3 ml), y se calentaron a 40°C. Se añadieron luego a la mezcla algunos cristales de TEMPO (radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) y aproximadamente 1 gota de blanqueador (disolución de hipoclorito de sodio, disponible como cloro >12%) y se siguió agitando a 40°C durante 4 horas. La mezcla se vertió después en hielo que contenía sulfito de sodio al 1% p/p, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (x3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con cloruro de sodio saturado acuoso y luego se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron para proveer 1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolina (0,392 g) como un sólido blanco que se utilizó sin purificación adicional. m/z $[M+H]^+ = 186$.

Ejemplo 131 N-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida (**E131**)

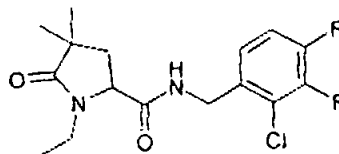
91



Se preparó *N*-[(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida en un modo análogo a aquel descrito para la síntesis de *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida (**E130**) pero usando [(2-cloro-3-(trifluorometil)fenil)metil]amina en lugar de [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina.

LC/MS $[M+H]^+$ = 377/379, tiempo de retención = 2,63 minutos.

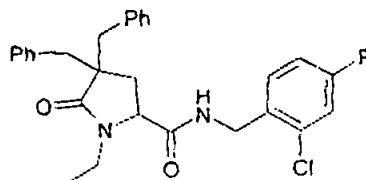
Ejemplo 132 *N*-[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida (**E132**)



Se preparó *N*-[(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para la síntesis de *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida (**E130**) pero usando hidrocloreuro de [(2-cloro-3,4-difluorofenil)metil]amina (preparado como se describió anteriormente para el Ejemplo 36) en lugar de [(2-cloro-4-fluorofenil)metil]amina.

LC/MS $[M+H]^+$ = 345/347, tiempo de retención = 2,43 minutos.

Ejemplo 133 *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-4,4-bis(fenilmetil)prolinamida (**E133**)



Se preparó *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-5-oxo-4,4-bis(fenilmetil)prolinamida en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para la síntesis de *N*-[(2-cloro-4-fluorofenil)metil]-1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolinamida (**E130**) pero usando 1-etil-5-oxo-4,4-bis(fenilmetil)prolina en lugar de 1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolina. Se preparó 1-etil-5-oxo-4,4-bis(fenilmetil)prolina en un modo análogo a aquel descrito para 1-etil-4,4-dimetil-5-oxoprolina del ejemplo 130 anterior, pero usando 1-etil-3,3-bis(fenilmetil)-5-[[[(trifenilmetil)oxi]metil]-2-pirrolidinona (aislada como

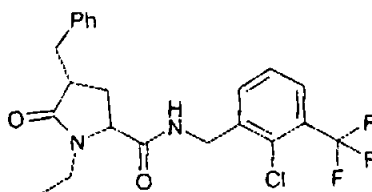
712

producto secundario en el método B, Ejemplo 37) en lugar de 1-etil-3,3-dimetil-5-
 {{{(trifenilmetil)oxi]metil]-2-pirrolidinona.

LC/MS $[M+H]^+ = 479/481$, tiempo de retención = 3,32 minutos.

Ejemplo 134 *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-etil-5-oxo-4-

5 (fenilmetil)prolinamida (**E134**)

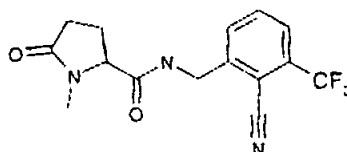


Se preparó *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-etil-5-oxo-4-
 (fenilmetil)prolinamida en un modo análogo a aquel descrito anteriormente para la
 síntesis de *N*-{[2-cloro-4-fluorofenil]metil]-1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolinamida (**E37**),
 10 pero usando {[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]amina en lugar de {[2-cloro-4-
 fluorofenil]metil]amina. Se usó el Método B, como se describió en el Ejemplo 37, para
 preparar la 1-etil-5-oxo-4-(fenilmetil)-prolina.

LC/MS $[M+H]^+ = 439/441$, tiempo de retención = 2,99 minutos.

Ejemplo 135 *N*-{[2-ciano-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida

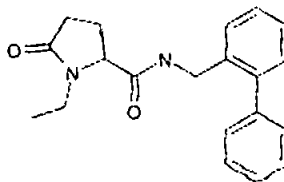
15 (**E135**)



Se preparó *N*-{[2-ciano-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida en
 un modo análogo a aquel descrito anteriormente para la síntesis de *N*-{[2-ciano-3-
 (trifluorometil)fenil]metil]-1-etil-5-oxoprolinamida (**E105**) pero usando 1-metil-5-oxo-
 20 prolina en lugar de 1-etil-5-oxo-prolina.

LC/MS $[M+H]^+ = 326$, tiempo de retención = 2,02 minutos.

Ejemplo 136 *N*-(2-bifenililmetil)-1-etil-5-oxoprolinamida (**E136**)



Se preparó *N*-(2-bifenililmetil)-1-etil-5-oxoprolinamida en un modo análogo a
 25 aquel descrito anteriormente para la síntesis de *N*-{[2,3-dimetilfenil]metil]-1-etil-5-

213

oxoprolinamida (**E50**) pero usando (2-bifenililmetil)amina en lugar de 2,3-dimetil bencilamina.

LC/MS $[M+H]^+ = 323$, tiempo de retención = 2,38 minutos.

Reactor de microondas

- 5 Cuando se indica en los ejemplos anteriores, el reactor de microondas utilizado fue un Biotage Initiator™. Las reacciones se llevaron a cabo usando potencia eléctrica normal a menos que se especifique de otro modo.

HPLC automática dirigida a masas

- 10 Cuando se indica en los ejemplos anteriores, la purificación por HPLC automática dirigida a masas se llevó a cabo usando el aparato y las condiciones siguientes:

Hardware

- Módulo de Gradiente Binario Waters 2525
 Bomba de Preparación Waters 515
 15 Módulo de Control de Bomba Waters
 Colector de Inyección Waters 2767
 Conductor de Fluidos de la Columna Waters
 Detector de Serie de Fotodiodos Waters 2996
 Espectrómetro de Masas Waters ZQ
 20 Colector de fracciones Gilson 202
 Colector de residuos Gilson Aspec

Software

Waters Masslynx versión 4 SP2

Columna:

- 25 Las columnas usadas son Waters Atlantis, cuyas dimensiones son 19 mm x 100 mm (escala pequeña) y 30 mm x 100 mm (escala grande). El tamaño de partículas de la fase estacionaria es de 5 μ m.

Disolventes

- A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,1%
 30 B: Disolvente orgánico = Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1%
 Disolvente de preparación = Metanol : agua
 Disolvente de aclarado de agujas = Metanol

Métodos

- 35 Se usan cinco métodos dependiendo del tiempo de retención analítico del compuesto de interés. Todos tienen un tiempo de ejecución de 13,5 minutos, que

comprende un gradiente de 10 minutos seguido de un lavado abundante de la columna de 3,5 minutos y una etapa de re-equilibrado.

Escala Grande/Pequeña 1,0-1,5 = 5-30% de B

Escala Grande/Pequeña 1,5-2,2 = 15-55% de B

5 Escala Grande/Pequeña 2,2-2,9 = 30-85% de B

Escala Grande/Pequeña 2,9-3,6 = 50-99% de B

Escala Grande/Pequeña 3,6-5,0 = 80-99% de B (en 6 minutos seguida de lavado abundante de 7,5 minutos y re-equilibrado)

Caudal

10 Todos los métodos anteriores tienen un caudal de 20 ml/min (Small Scale) o 40 ml/min (Large Scale)

HPLC quiral

Los aparatos y las condiciones utilizados para caracterizar la pureza enantiómera de las muestras seleccionadas fueron los siguientes:

15 Método a)

Instrumento: Agilent 1100 Serie Liquid Chromatogram

Columna: Chiralpak AD (250mm x 4,6mm; tamaño de partícula 10um)

Fase móvil: Heptano:etanol absoluto (70:30) v/v bomba mixta

Caudal: 1 ml/min

20 Temperatura: Ambiente

Longitud de onda U.V.: 215 nM

Método (B)

Instrumento: Agilent 1100 Serie Liquid Chromatogram

Columna: Chiralpak AD (250mm x 4,6mm; tamaño de partícula 10um)

25 Fase móvil: Heptano:etanol absoluto (50:50) v/v bomba mixta

Caudal: 1 ml/min

Temperatura: Ambiente

Longitud de onda U.V.: 215 nM

Método (C)

30 Instrumento: Agilent 1100 Serie Liquid Chromatogram

Columna: Chiralpak AD (250mm x 4,6mm; tamaño de partícula 10um)

Fase móvil: Heptano:etanol absoluto (80:20) v/v bomba mixta

Caudal: 1 ml/min

Temperatura: Ambiente

35 Longitud de onda U.V.: 215 nM

Método (D)

Instrumento: Agilent 1100 Serie Liquid Chromatogram

Columna: Chiralpak AS (250mm x 4,6mm; tamaño de partícula 10µm)

Fase móvil: Heptano:etanol absoluto (80:20) v/v bomba mixta

5 Caudal: 1 ml/min

Temperatura: Ambiente

Longitud de onda U.V.: 215 nm

Cromatografía líquida / Espectrometría de masas

- El análisis de los Ejemplos anteriores por Cromatografía Líquida /
- 10 Espectrometría de Masas (LC/MS) se llevó a cabo usando los siguientes aparatos y condiciones:

Hardware

Bomba de gradiente Agilent 1100

Autoinyector Agilent 1100

15 Detector Agilent 1100 DAD

Desgasificador Agilent 1100

Estufa Agilent 1100

Controlador Agilent 1100

Espectrómetro de Masas Waters ZQ

20 Sedere Sedex 85

Software

Waters Masslynx versión 4.0 SP2

Columna:

- La columna usada es una Waters Atlantis, cuyas dimensiones son 4,6 mm x 50
- 25 mm. El tamaño de partículas de la fase estacionaria es de 3 µm.

Disolventes

A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,05%

B: Disolvente orgánico = Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,05%

Método

- 30 El método genérico usado tiene un tiempo de ejecución de 5 minutos.

2/6

Tiempo / min	%B
0	3
0,1	3
4	97
4,8	97
4,9	3
5,0	3

El método anterior tiene un caudal de 3 ml/min

El volumen de inyección para el método genérico es 5 μ l.

5 La temperatura de la columna es de 30 grados.

El intervalo de detección UV es de 220 a 330 nm.

Datos farmacológicos

Los compuestos de la invención se pueden ensayar para actividad biológica *in vitro* en el receptor P2X7 de acuerdo con los siguientes estudios:

10 Ensayo de acumulación de etidio

Los estudios se realizaron usando un tampón de ensayo de NaCl de la siguiente composición (en mM): NaCl 140mM, HEPES 10, *N*-metil-D-glucamina 5, KCl 5,6, D-glucosa 10, CaCl₂ 0,5 (pH 7,4). Se cultivaron células HEK293, que expresan los receptores P2X7 humanos recombinantes, en placas de 96 pocillos pre-tratadas con

15 poli-L-lisina durante 18-24 h. (La clonación del receptor P2X7 humano se describe en el documento US 6.133.434). Las células se lavaron dos veces con 350 μ l de tampón de ensayo antes de la adición de 50 μ l del compuesto de ensayo. Las células se incubaron luego a temperatura ambiente (19-21°C) durante 30 min antes de la adición de ATP y etidio (concentración de ensayo final 100 μ M). La concentración de ATP se

20 seleccionó cercana al CE₅₀ para el tipo de receptor y fue 1 mM para los estudios en el receptor P2X7 humano. Las incubaciones continuaron durante 8 ó 16 min y finalizaron con la adición de 25 μ l de sacarosa 1,3M que contenía 5mM del antagonista del receptor P2X7 receptor reactivo negro 5 (Aldrich). La acumulación celular de etidio se determinó midiendo la fluorescencia (longitud de onda de excitación de 530nm y

25 longitud de onda de emisión de 620nm) de debajo de la placa con un Cariberra Packard Fluorocount (Pangbourne, Reino Unido) o un Flexstation.II (Molecular Devices). Los valores pCl₅₀ antagonistas para bloquear las respuestas ATP se determinaron usando las técnicas de ajuste de curvas iterativas.

Ensayo Ca de Lectora de placa de imágenes fluorescentes (FLIPR)

Los estudios se realizaron usando un tampón de ensayo de NaCl de la siguiente composición (en mM) para P2X7 humano: 137 NaCl; 20 HEPES; 5,37 KCl; 4,17 NaHCO₃; 1 CaCl₂; 0,5 MgSO₄; y 1g/L de D-glucosa (pH 7,4).

- 5 Se cultivaron células HEK293, que expresan los receptores P2X7 humanos recombinantes, en placas de 384 pocillos pre-tratadas con poli-L-lisina durante 42-48h. (La clonación del receptor P2X7 humano se describe en el documento US 6.133.434). Las células se lavaron tres veces con 80µl de tampón de ensayo, se cargaron durante 1h a 37°C con 2µM Fluo4 (Teflabs), se lavaron tres veces de nuevo y se dejaron con
- 10 30µl tampón antes de la adición de 10 µl de 4x del compuesto de ensayo concentrado. Las células se incubaron luego a temperatura ambiente durante 30 min antes de la adición (en línea, mediante instrumento FLIPR384 o FLIPR3 (Molecular Devices)) de Benzoilbenzoil-ATP (BzATP), concentración de ensayo final 60µM. La concentración de BzATP se eligió cercana al CE₈₀ para el tipo de receptor. Las incubaciones y
- 15 lecturas continuaron durante 90 segundos, y el incremento de calcio intracelular se determinó midiendo la fluorescencia (longitud de onda de excitación de 488nm y longitud de onda de emisión de 516nm) de debajo de la placa, con cámara FLIPR CCD. Los valores pCI₅₀ antagonistas para bloquear las respuestas BzATP se determinaron usando técnicas de ajuste de curvas iterativas.

- 20 Los compuestos de los Ejemplos 1-136 se ensayaron en el ensayo Ca FLIPR Ca y/o en el Ensayo de Acumulación de Etidio para la actividad del antagonista de los receptores P2X7 humanos y se halló que tienen valores pCI₅₀ > 4,7 en el Ensayo Ca FLIPR y/o valores pCI₅₀ > 5,5 en el Ensayo de Acumulación de Etidio.

Datos *in vivo*

- 25 **Modelo de rata de dolor neuropático**

- Colocando ligaduras constrictivas flojas alrededor del nervio ciático común, se puede producir una mononeuropatía periférica, que provee así un modelo de rata de dolor neuropático, Bennet *et al.*, Pain, Vol.33, pp87-107 (1988). Ratas macho adultas aleatorias Hooded (180-200g) de Charles River, Reino Unido se anestesiaron con
- 30 isoflurano (3%). El nervio ciático de la pierna izquierda se expuso en el nivel medio del muslo y se ataron 4 ligaduras flojas de catgut Chromic 4.0 alrededor del nervio como lo describen Bennet *et al.*, Pain, Vol.33, pp87-107 (1988). Se cerró la herida y se aseguró con grapas. Las ratas control se sometieron al mismo procedimiento pero no se aplicaron ligaduras sueltas. La presencia de alodinia mecánica (táctil) se evaluó
- 35 usando aplicación manual de monofilamentos de pelo Von Frey. Los monofilamentos

se aplicaron en orden ascendente a la región plantar de la garra trasera (intervalo: 1,4g-26g). Cada pelo se aplicó durante aprox. 3-5 segundos hasta que se observó una respuesta de retirada de la pata. Después de la confirmación con reaplicación de pelos inferiores y/o superiores, se registró el pelo más inferior en dar una retirada de la pata como la respuesta umbral (g). Cuando se estableció la alodinia estable, a las ratas se les administró, 26-33 días después de la cirugía, el compuesto dos veces al día durante 8 días, y se registraron las mediciones de alodinia por lo menos tres veces durante el período de administración. *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (E10) y *N*-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (E51) revirtieron significativamente la alodinia mecánica inducida por CCI en comparación con la respuesta del vehículo.

Modelo de rata de dolor articular

Midiendo la hipersensibilidad post inyección intra-articular de FCA a la rodilla, se puede evaluar la eficacia de un analgésico potencial para revertir la hipersensibilidad inducida por FCA en un modelo de dolor articular de dolor inflamatorio crónico. Las ratas macho adultas aleatorias Hooded (150-180g) de Charles River, Reino Unido se anestesiaron brevemente con isoflurano (3%). Se les inyectó a las ratas 150 µl de adyuvante completo de Freund (FCA) en la articulación de la rodilla izquierda (intra-articularmente). Se midió la capacidad de soportar peso en cada pata trasera (carga de peso, g) antes y después de usar un Promediador de Peso de Doble Canal (Linton Instruments). Cuando se estableció una diferencia estable en la carga de peso entre las patas inyectadas y contralaterales, se administró una dosis oral a las ratas (normalmente 13-17 días después de la cirugía) del compuesto dos veces al día durante 5 días con mediciones de carga de peso que se registraron a diario. *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (E10) y *N*-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (E51) revirtieron significativamente la diferencia inducida por FCA (i.art) en la carga de peso, en comparación con la respuesta del vehículo, y produjeron ED50 <20mg/kg obtenidos a partir de los cálculos del Área Debajo de la Curva (AUC).

Modelo de rata de dolor inflamatorio agudo

Un modelo animal útil para dolor inflamatorio agudo es el modelo de inflamación inducido por Adyuvante Completo de Freund (FCA). Clayton *et al.* describen un modelo similar que usa carragenina en lugar de FCA, en Br. J. Pharmacol. 1997; 120, 219P. Las ratas macho adultas aleatorias Hooded (180-220g) de Charles River, Reino Unido, recibieron una inyección intraplantar (i.pl) de 100 µl de

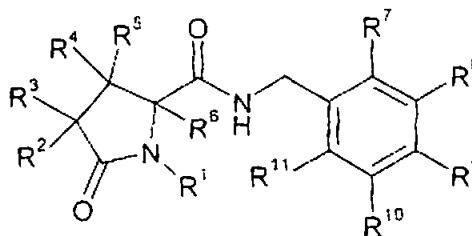
219

FCA en la superficie plantar de la pata trasera izquierda. Se midió la capacidad de soportar peso en cada extremidad trasera (carga de peso g) antes y 24 horas después de la inyección de FCA, usando un Promediador de Peso de Doble Canal (Linton Instruments). Después de la lectura post-FCA, las ratas se administraron típicamente por vía oral con el compuesto, después de lo cual se registraron las mediciones de carga de peso. *N*-[(2,4-diclorofenil)metil]-1-metil-5-oxo-prolinamida (**E10**) y *N*-[[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil]-1-metil-5-oxoprolinamida (**E51**) revirtieron significativamente la diferencia inducida por FCA (i.p.) en la carga de peso, en comparación con la respuesta del vehículo y produjeron ED50 <20mg/kg obtenidos a partir de las curvas de dosis y respuesta.

220

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables:



(I)

donde:

R¹ representa alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilmetilo C₃₋₆ o piridinilmetilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o fenilo o bencilo no sustituido;

R² y R³ independientemente representan hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, arilmetilo-, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o cicloalquilmetilo C₃₋₆; y cualquiera de dichos alquilo C₁₋₆, arilmetilo-, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o cicloalquilmetilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;

R⁴, R⁵ y R⁶ independientemente representan hidrógeno, flúor o metilo; y

R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o fenilo, y cualquiera de dichos alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o fenilo está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o R¹⁰ y R¹¹, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo benceno que está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;

con la salvedad que cuando R⁷ y R¹¹ se seleccionan ambos de hidrógeno o flúor, por lo menos uno de R⁸, R⁹ y R¹⁰ es un átomo de halógeno, o R⁸, R⁹ y R¹⁰ se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno y CF₃, y uno, pero no más de uno, de R⁸, R⁹ y R¹⁰ es CF₃.

2. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables:

R¹ representa alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o cicloalquilmetilo C₃₋₆, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno; o fenilo o bencilo no sustituido;

5 R² y R³ independientemente representan hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, arilmetilo, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o cicloalquilmetilo C₃₋₆; y cualquiera de dichos alquilo C₁₋₆, arilmetilo, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o cicloalquilmetilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;

R⁴, R⁵ y R⁶ independientemente representan hidrógeno o flúor; y

10 R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o fenilo; y cualquiera de dichos alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ o fenilo está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de halógeno;

con la salvedad que cuando R⁷ y R¹¹ independientemente representan hidrógeno o flúor, por lo menos uno de R⁸, R⁹ y R¹⁰ es un átomo de halógeno.

15 4. Un compuesto de fórmula (I) según lo definido en la reivindicación 1, en el que R¹ representa alquilo C₁₋₆ no sustituido, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, piridinilmetilo-, fenilo o bencilo.

5. Un compuesto de fórmula (I) según lo definido en las reivindicaciones 1 ó 4, en el que R² y R³ independientemente representan hidrógeno, flúor o metilo.

20 6. Un compuesto de fórmula (I) según lo definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 ó 5, en el que R⁴, R⁵ y R⁶ independientemente representan hidrógeno o metilo.

7. Un compuesto de fórmula (I) según lo definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4, 5 ó 6, en el que R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ independientemente representan hidrógeno, halógeno, ciano, trifluorometilo, alquilo C₁₋₆ no sustituido; o R¹⁰ y R¹¹, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo benceno no sustituido.

8. Un compuesto de fórmula (I) según lo definido en la reivindicación 1, que es un compuesto de los Ejemplos 1-136, o su sal farmacéuticamente aceptable.

30 9. Un compuesto de fórmula (I) según lo definido en la reivindicación 1, que es *N*-{[2-cloro-3-(trifluorometil)fenil]metil}-1-metil-5-oxoprolinamida.

10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según lo definido en cualquier reivindicación precedente y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 11. Un compuesto, o su sal farmacéuticamente aceptable, según lo definido

en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso en terapia.

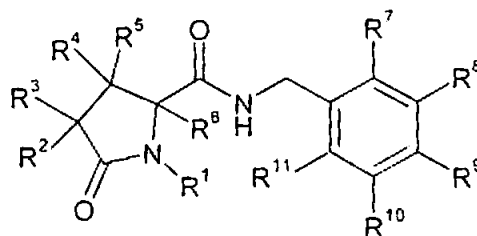
12. Un método para tratar a un ser humano o animal que sufre de dolor, inflamación o una enfermedad neurodegenerativa, donde el método comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.

13. Uso de un compuesto según lo definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento del dolor, la inflamación o una enfermedad neurodegenerativa.

224

Resumen

La presente invención se refiere a nuevos derivados de oxo-prolinamida de fórmula (I) que modulan la función del receptor P2X7 y son capaces de antagonizar los efectos de ATP en el receptor P2X7



(I)

y al uso de dichos compuestos o sus composiciones farmacéuticas en el tratamiento de trastornos mediados por el receptor P2X7, por ejemplo dolor, inflamación y neurodegeneración.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference MXG/PB62045	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. PCT/EP2007/056675	International filing date (day/month/year) 03/07/2007	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 06/07/2006
Applicant GLAXO GROUP LIMITED		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box No. III)

4. With regard to the title,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

SUBSTITUTED N-PHENYLMETHYL -5-OXO-PROLINE-2-AMIDES AS P2X7-RECEPTOR ANTAGONISTS AND THEIR METHODS OF USE.

5. With regard to the abstract,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/EP2007/056675

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

 INV. C07D207/28 C07D401/06 A61K31/4015 A61K31/402 A61P25/28
 A61P29/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/29661 A (ASTRA PHARMA PROD [GB]; ASTRA AB [SE]; BAXTER ANDREW [GB]; MCINALLY TH) 17 June 1999 (1999-06-17) antagonists of P2X7 receptor, see structure of the compounds of claim 1 -----	1-13
A	WO 99/29686 A (ASTRA PHARMA PROD [GB]; ASTRA AB [SE]; BAXTER ANDREW [GB]; CHESHIRE DA) 17 June 1999 (1999-06-17) antagonists of P2X7 receptor, see structure of the compounds of claim 1 -----	1-13
A	FR 2 273 533 A (FERLUX SA [FR]) 2 January 1976 (1976-01-02) see activity of the compounds of claim 1 -----	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *C* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *8* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 September 2007

Date of mailing of the international search report

02/10/2007

Name and mailing address of the ISA*

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

TRAEGLER-GOELDEL, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2007/056675

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 12 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/056675

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9929661	A	17-06-1999	AT 224360 T 15-10-2002
			AU 744280 B2 21-02-2002
			AU 1791399 A 28-06-1999
			BR 9813390 A 03-10-2000
			CA 2312420 A1 17-06-1999
			CN 1284057 A 14-02-2001
			DE 69808130 D1 24-10-2002
			DE 69808130 T2 28-05-2003
			DK 1036059 T3 02-12-2002
			EE 200000378 A 17-12-2001
			EP 1036059 A1 20-09-2000
			ES 2184352 T3 01-04-2003
			HU 0004434 A2 28-05-2001
			ID 28003 A 03-05-2001
			JP 2001525392 T 11-12-2001
			NO 20002786 A 31-07-2000
			NZ 504447 A 26-04-2002
			PL 340906 A1 12-03-2001
			PT 1036059 T 28-02-2003
			RU 2214997 C2 27-10-2003
			SK 8432000 A3 11-12-2000
			TR 200001605 T2 23-10-2000
			US 6201024 B1 13-03-2001
			US 6258838 B1 10-07-2001
WO 9929686	A	17-06-1999	AU 1791599 A 28-06-1999
			BR 9813378 A 10-10-2000
			CA 2312357 A1 17-06-1999
			CN 1284074 A 14-02-2001
			EE 200000321 A 15-08-2001
			EP 1037889 A1 27-09-2000
			HU 0100731 A2 29-05-2002
			JP 2001525406 T 11-12-2001
			NO 20002787 A 01-08-2000
			PL 340837 A1 26-02-2001
			SK 8442000 A3 18-01-2001
			TR 200001544 T2 21-11-2000
FR 2273533	A	02-01-1976	NONE

PATENT COOPERATION TREATY

729

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2007/056675

International filing date (day/month/year)
03.07.2007

Priority date (day/month/year)
06.07.2006

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D207/28 C07D401/06 A61K31/4015 A61K31/402 A61P25/28 A61P29/00

Applicant
GLAXO GROUP LIMITED

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☒ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

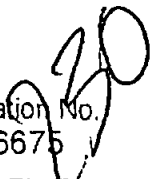
see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

TRAEGLER-GOELDEL, M
Telephone No. +49 89 2399-8278



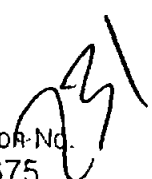
WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No. 
PCT/EP2007/056675

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
- 3 ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
- 4 Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No. 
PCT/EP2007/056675

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 12

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 12 relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

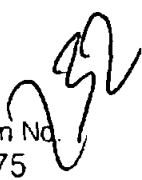
☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13*ter*.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No. 
PCT/EP2007/056675

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1 Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-13</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-13</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-11,13</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)

International application No. 

PCT/EP2007/056675

re item III:

Claim 12 in its present form are directed to methods for the treatment of the human or animal body. Under the terms of Rule 67.1 (iv) and Article 34 (4)a) PCT the International Preliminary Examination Authority is not required to carry out an examinations on such claims.

re Item V:

1. Prior art

The Preliminary Examination is carried out in the light of the prior art as cited in the International Search Report:

D1: WO 99/29661 A (ASTRA PHARMA PROD [GB]; ASTRA AB [SE]; BAXTER ANDREW [GB]; MCINALLY TH) 17 June 1999 (1999-06-17)

D2: WO 99/29686 A (ASTRA PHARMA PROD [GB]; ASTRA AB [SE]; BAXTER ANDREW [GB]; CHESHIRE DA) 17 June 1999 (1999-06-17)

D3: FR-A-2 273 533 (FERLUX SA [FR]) 2 January 1976 (1976-01-02)

2. Novelty

The claimed compounds are N-substituted pyrrolidin-2-on-5-N-benzylamides substituted with specific substituents in the phenyl ring, whereas document D1 discloses substituted benzoic acid N-adamantylmethyamides, document D2 discloses inter alia N-biaryloxyethyl pyrrolidin-2-one derivatives and document D3 is concerned with i.a. N-substituted pyrrolidin-2-on-5-carboxylic acid derivatives. The structural closest examples 15 and 20 (pyrrolidin-2-on-5-N-benzyl-N-tert.butyl amides) disclosed in this document do not fall under the scope of present claim 1, since the phenyl residue is unsubstituted and the amide nitrogen bears a tert. butyl group instead of the hydrogen in present claim 1. Therefore, the subject matter of claims 1 to 13 is considered to fulfil the requirements according to Art. 33 (2) PCT.

3. Inventive step

Documents D1 and D2 as well as the present application are concerned with compounds which are antagonists of the P2X7 receptors and as such are useful in the treatment of pain, inflammation and neurodegenerative disorders. Nevertheless, the compounds of the present application differ structurally considerably from those according to documents D1 and D2, as set out under item 2, above. Document D3 comprises in general N-substituted pyrrolidin-2-on-5-N-benzylamides, but the phenyl residue of the benzamide is unsubstituted, whereas it must be substituted with specific substituents according to present claim 1. From the compounds as disclosed in document D3, it is known that their pharmacological activity is different from that of the present compounds: they are antihyperlipidemics and antihypercholesteremis; it is stated in the description that some of the compounds also possess psychosedative, analgetic and cardiovascular activities. Therefore, the problem underlying the present application is to be seen in the provision of further antagonists of the P2X7 receptors. As can be seen from the examples and tests as given in the specification, this problem has obviously been solved. The solution of this problem can be considered to involve an inventive step with respect to the cited document, since the skilled man, faced with said problem would not have been led by documents D1 and D2, neither taken alone nor in combination to modify the known benzoic acid N-adamantylmethanamide derivatives according to D1 as to result with the claimed N-substituted pyrrolidin-2-on-5-N-benzylamides substituted with specific substituents in the phenyl ring. Although it is stated in the description of D3 that some of the compounds show also psycho-sedative, analgetic and cardiovascular activities, this document would not have led the skilled man to the claimed compounds, since the main action of the prolin-5-onamides of D3 is different and second only some compounds show said further effect. Third there is no hint to be found in document D3 that any N-substituted pyrrolidin-2-on-5-N-benzylamides (only in general comprised by D3) must furthermore be substituted with specific substituents in the phenyl ring as defined in present claim 1. Therefore, the claimed subject matter of claims 1 to 13 may be considered as to fulfil the requirement of Art. 33 (3) PCT with respect to the cited prior art.

4. Industrial applicability

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**


International application No.

PCT/EP2007/056675

No objection arises concerning claims 1 to 11 and 13 as far as the claimed compounds may be used for the production of pharmaceutical products.

re item VII:

According to the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines, chapter 5.10, the claims must not rely on references to the description. Thus, Claim 8 in its present form is not admissible, since it contains a reference to the description and should be reformulated, e.g. comprising all 136 examples by name or structure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2007/056675

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D207/28 C07D401/06 A61K31/4015 A61K31/402 A61P25/28
A61P29/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/29661 A (ASTRA PHARMA PROD [GB]; ASTRA AB [SE]; BAXTER ANDREW [GB]; MCINALLY TH) 17 June 1999 (1999-06-17) antagonists of P2X7 receptor, see structure of the compounds of claim 1	1-13
A	WO 99/29686 A (ASTRA PHARMA PROD [GB]; ASTRA AB [SE]; BAXTER ANDREW [GB]; CHESHIRE DA) 17 June 1999 (1999-06-17) antagonists of P2X7 receptor, see structure of the compounds of claim 1	1-13
A	FR 2 273 533 A (FERLUX SA [FR]) 2 January 1976 (1976-01-02) see activity of the compounds of claim 1	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 September 2007

Date of mailing of the international search report

02/10/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

TRAEGLER-GOELDEL, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2007/056675

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 12 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/056675

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9929661	A	17-06-1999	AT 224360 T	15-10-2002
			AU 744280 B2	21-02-2002
			AU 1791399 A	28-06-1999
			BR 9813390 A	03-10-2000
			CA 2312420 A1	17-06-1999
			CN 1284057 A	14-02-2001
			DE 69808130 D1	24-10-2002
			DE 69808130 T2	28-05-2003
			DK 1036059 T3	02-12-2002
			EE 200000378 A	17-12-2001
			EP 1036059 A1	20-09-2000
			ES 2184352 T3	01-04-2003
			HU 0004434 A2	28-05-2001
			ID 28003 A	03-05-2001
			JP 2001525392 T	11-12-2001
			NO 20002786 A	31-07-2000
			NZ 504447 A	26-04-2002
			PL 340906 A1	12-03-2001
			PT 1036059 T	28-02-2003
			RU 2214997 C2	27-10-2003
			SK 8432000 A3	11-12-2000
			TR 200001605 T2	23-10-2000
			US 6201024 B1	13-03-2001
			US 6258838 B1	10-07-2001
WO 9929686	A	17-06-1999	AU 1791599 A	28-06-1999
			BR 9813378 A	10-10-2000
			CA 2312357 A1	17-06-1999
			CN 1284074 A	14-02-2001
			EE 200000321 A	15-08-2001
			EP 1037889 A1	27-09-2000
			HU 0100731 A2	29-05-2002
			JP 2001525406 T	11-12-2001
			NO 20002787 A	01-08-2000
			PL 340837 A1	26-02-2001
			SK 8442000 A3	18-01-2001
			TR 200001544 T2	21-11-2000
FR 2273533	A	02-01-1976	NONE	

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-000364- -00000-0000

Fecha: 2009-01-05 16:14:15 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTLIYII Eje: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 238



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [✓]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [✓]
- ◆ Descripción de la invención [✓]
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [X]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [✓]

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Claudia M Nava
Firma Responsable

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 240

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REYNALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
GLAXO GROUP LIMITED

REFERENCIA	Radicación No.	9 364
	Solicitud internacional	PCT/EP2007/056675
	Fecha inicio fase nacional	06/02/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	7680
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase

Dado en Bogotá D.C.,

20 FEB. 2009

DORIS ELENA POLO CORDOBA

Jefe de la división de Nuevas Creaciones (E)

adpall