



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 935**

51 Int. Cl.:  
**C07D 401/12** (2006.01)  
**A61K 31/4709** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06753758 .9**  
96 Fecha de presentación : **22.05.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1902045**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.03.2008**

54 Título: **Derivados de 2,6-quinolinilo, procedimientos para prepararlos y su uso como medicamento.**

30 Prioridad: **09.06.2005 GB 0511781**  
**18.08.2005 US 206158**  
**06.01.2006 GB 0600213**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**30.05.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**30.05.2011**

73 Titular/es: **UCB PHARMA, S.A.**  
**60, allée de la Recherche**  
**1070 Brussels, BE**

72 Inventor/es: **Perry, Benjamin**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 359 935 T3

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

## DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a derivados de 2,6-quinolinilo, a los procedimientos para prepararlos, a las composiciones farmacéuticas que los contienen y a su uso como productos farmacéuticos.

5 La integrina  $\alpha 4\beta 1$  (también denominada VLA-4 o Very Late Antigen-4 y designada CD49d/CD29) se expresa predominantemente en los eosinófilos, linfocitos, monocitos y basófilos. Se une principalmente a la molécula de adhesión de la superficie celular vascular VCAM-1, que se expresa en el endotelio en respuesta a las citocinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1 y selectivamente IL-4 y IL-13) y a la proteína de la matriz extracelular fibronectina.

Debido a que la  $\alpha 4\beta 1$  no se expresa en los neutrófilos circulantes, que son la principal defensa contra la infección, es un objetivo para el control farmacológico de las enfermedades inflamatorias.

10 Varios estudios in vitro e in vivo han indicado un papel importante de  $\alpha 4\beta 1$  en las patologías inflamatorias mediadas por la adhesión celular y que bloquear su función es beneficioso. Las enfermedades incluyen asma, esclerosis múltiple (MS, del inglés multiple sclerosis), artritis reumatoide (RA, del inglés rheumatoid arthritis) o enfermedad inflamatoria de bowel.

15 La  $\alpha 4\beta 1$  también se expresa en células leucémicas que muestran supervivencia aumentada mediante la unión a fibronectina expresada en células del estroma de la médula ósea. Bloquear esta interacción en presencia de quimioterapia es beneficioso para prevenir el relapso de la leucemia mielógena aguda.

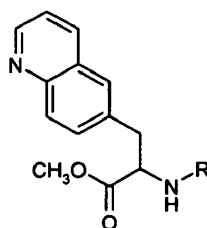
También se han identificado la  $\alpha 4\beta 1$  y VCAM-1 en células musculares lisas del engrosamiento aterosclerótico de la íntima de la aorta de adulto. El bloqueo de esta interacción es beneficioso en la prevención de la aterosclerosis y la diferenciación del músculo liso.

20 La interacción de  $\alpha 4\beta 1$  sobre las células inflamatorias con fibronectina también ha mostrado que aumenta el fallo crónico del aloinjerto. El bloqueo de esta interacción es beneficioso para mantener supervivencia del trasplante.

25 La integrina  $\alpha 4\beta 7$  (también denominada LPAM-1) se expresa en algunas sub-poblaciones de linfocitos T y B y en eosinófilos. Al igual que la  $\alpha 4\beta 1$ , la  $\alpha 4\beta 7$  se une a VCAM-1 y la fibronectina. Además, la  $\alpha 4\beta 7$  se une a la molécula de adhesión superficial celular MAdCAM-1 que se expresa preferentemente en el tracto gastrointestinal y que se cree que está implicada en el asentamiento linfocitario en la mucosa gastrointestinal. La interacción entre la  $\alpha 4\beta 7$  y MAdCAM-1 puede ser también un sitio importante de inflamación fuera del tejido mucoso.

Algunos estudios han mostrado que la  $\alpha 4\beta 7$  está implicada en la enfermedad inflamatoria de bowel y que bloquear su función es beneficioso.

La solicitud de patente internacional WO 00/ 15612 describe compuestos que tienen una fórmula general

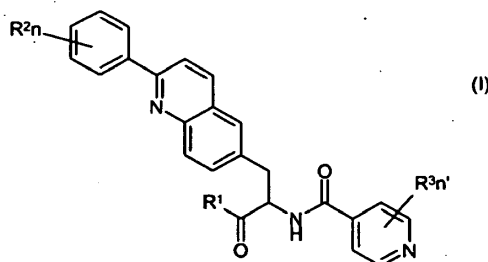


30 en la que R representa algunos sustituyentes tales como hidrógeno, -COOH, -COOalquilo. Estos compuestos pueden ser usados como compuestos intermedios en una preparación de compuestos farmacéuticos, pero no se ha buscado ninguna utilidad farmacéutica para ellos como tales.

La solicitud de patente internacional WO 03/093237 describe derivados de 2,6-quinolinilo y 2,6-naftilo como productos farmacéuticos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias dependientes de VLA-4.

35 Ahora hemos encontrado algunos análogos de estos compuestos 2,6-quinolinilo que son inhibidores potentes y selectivos de  $\alpha 4$  integrinas, tales como  $\alpha 4\beta 1$  y/o  $\alpha 4\beta 7$ , que muestran biodisponibilidad oral mejorada, un aclaramiento bajo y una absorción elevada. Estos compuestos no tienen o tienen mínima acción inhibitoria sobre las  $\alpha$  integrinas de otros subgrupos.

40 En un aspecto, la invención proporciona por lo tanto un compuesto que tiene la fórmula I, sus enantiómeros, diaestereoisómeros o una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable,



en la que:

R1 es hidrógeno, hidroxilo o alquilo C 1-6;

R2 es hidrógeno o halógeno;

5 n es de 0 a 5;

R3 es hidrógeno, o halógeno;

n' es de 0 a 4.

10 El término "alquilo", tal como se usa en la presente memoria, representa radicales saturados hidrocarbonados monovalentes que tienen restos lineales o ramificados o sus combinaciones y que contienen 1-6 átomos de carbono, preferiblemente 1-2 átomos de carbono o uno de los metilenos (-CH<sub>2</sub>-) puede estar reemplazado con un átomo de oxígeno. El grupo alquilo preferido es metoxi.

El término "hidroxilo", como se usa en la presente memoria, representa un grupo de la fórmula -OH.

El término "halógeno", como se usa en la presente memoria, representa un átomo de cloro, bromo, flúor o yodo. El halógeno preferido es cloro.

15 Habitualmente, R1 es hidrógeno, hidroxilo o alquilo C1-6. R1 preferido es hidroxilo y metoxi. R1 más preferido es hidroxilo.

Habitualmente, R2 es hidrógeno o halógeno. R2 preferido es halógeno. R2 más preferido es cloro. El R2 más preferido es cloro en posiciones 2 y 6 del anillo fenilo.

Habitualmente n es de 0 a 5. n preferido es 1, 2 o 3. n más preferido es 2.

20 Habitualmente, R3 es hidrógeno o halógeno. R3 preferido es halógeno. R3 más preferido es cloro. El R3 más preferido es cloro en posiciones 3 y 5 del anillo piridino.

Habitualmente n' es de 0 a 4. n' preferido es 1, 2 o 3. n' más preferido es 2.

Habitualmente R2 es un átomo de cloro en posición 2 o 4 del anillo fenilo. Preferiblemente R2 es al menos un átomo de cloro en posición 2 o 4 del anillo fenilo. R2 más referido es un átomo de cloro en posición 2 y 4 del anillo fenilo.

25 Habitualmente R3 es un átomo de cloro en posición 3 o 5 del anillo piridino. Preferiblemente R3 es al menos un átomo de cloro en posición 3 o 5 del anillo piridino. R3 más preferido es un átomo de cloro en posición 3 y 5 del anillo piridino.

Son compuestos preferidos: metil-(2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil]propanoato y ácido (2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil] propanoico y sus sales farmacéuticamente aceptables.

30 El compuesto más preferido es el ácido (2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil] propanoico y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de fórmula I y algunos de sus intermedios tienen al menos un centro estereogénico en su estructura. Este centro estereogénico puede estar presente en una configuración R o S, donde dicha notación R y S se usa de acuerdo con las reglas descritas en Pure Appl. Chem. (1976), 45, 11-30.

35 En todos los ámbitos anteriormente mencionados, el átomo de carbono asimétrico está preferiblemente en la configuración "S".

Las "sales farmacéuticamente aceptables" según la invención, incluyen las formas de sales básicas y ácidas terapéuticamente activas, no tóxicas, que los compuestos de la fórmula I son capaces de formar.

- 5 La forma de sal de adición de ácido de un compuesto de la fórmula I que se presenta en su forma libre como una base, se puede obtener tratando la base libre con un ácido apropiado tal como un ácido inorgánico, por ejemplo, un ácido halohídrico tal como clorhídrico o bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o un ácido orgánico, tal como, por ejemplo, acético, hidroxiacético, propanoico, láctico, pirúvico, malónico, succínico, maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico, pamoico y similares (Handbook of Pharmaceutical Salts, P. Heinrich Stahl & Camille G. Wermuth (Eds), Verlag Helvetica Chimica Acta - Zürich, 2002, 329-345).
- 10 Los compuestos de fórmula I que contienen protones ácidos se pueden convertir en sus forma de sales de adición de bases, no tóxicas, terapéuticamente activas, por ejemplo, sales de metales o sales de aminas, por tratamiento con bases apropiadas orgánicas e inorgánicas. Las formas de sal de base apropiadas incluyen, por ejemplo, sales de amonio, sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo sales de N-metil-D-glucamina, hidrabamina y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares (Handbook of Pharmaceutical Salts, P. Heinrich Stahl & Camille G. Wermuth (Eds), Verlag Helvetica Chimica Acta - Zürich, 2002, 329-345).
- 15 A la inversa, dichas formas de sal se pueden convertir en las formas libres por tratamiento con una base o ácido apropiados.
- Los compuestos de la fórmula I y sus sales pueden estar en forma de solvatos, que están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Dichos solvatos incluyen, por ejemplo, hidratos, alcoholatos y similares.
- 20 La invención se refiere también a todas las formas estereoisómeras tales como formas enantiómeras y diaestereoisómeras de los compuestos de fórmula I o sus mezclas (incluyendo todas las posibles mezclas de estereoisómeros).
- Algunos de los compuestos de fórmula I pueden existir también en formas tautoméricas. Dichas formas aunque no están explícitamente indicadas en la fórmula anterior se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.
- 25 Con respecto a la presente invención, la referencia a un compuesto o compuestos pretende incluir dicho compuesto en cada una de sus formas isoméricas posibles y mezclas de las mismas a menos que se cite específicamente una forma isomérica particular.
- Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden existir en diferentes formas polimórficas. Aunque dichas formas no están explícitamente indicadas en la fórmula anterior se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.
- 30 La presente invención se refiere también a procedimientos para preparar los compuestos de la fórmula I.
- Los compuestos de fórmula I, según la invención, se pueden preparar análogamente a los métodos convencionales, descritos en la solicitud de patente WO 03/093237, como es entendido por el experto en la materia en el campo de la química orgánica sintética.
- 35 Cuando los compuestos de la fórmula I presentan un centro estereogénico, y no se utilizan métodos estereoselectivos de síntesis, la resolución de la mezcla de estereoisómeros se puede realizar mejor en una o varias etapas, que generalmente incluyen la separación secuencial de mezclas de diastereoisómeros en sus racematos constituyentes, usando preferiblemente separaciones cromatográficas en fase quiral o aquiral en modo inverso o preferiblemente en modo directo, seguida por al menos una última etapa de resolución de cada racemato en sus enantiómeros, usando lo más preferiblemente una separación cromatográfica en fase quiral en modo inverso o preferiblemente en modo directo. Alternativamente, cuando se usan métodos de síntesis parcialmente estereoselectivos, la última etapa puede ser una separación de diastereoisómeros usando preferiblemente separaciones cromatográficas en fase aquiral o quiral en modo inverso o preferiblemente en modo directo.
- 40
- 45 Se ha encontrado ahora que los compuestos de fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables son útiles en una variedad de indicaciones farmacéuticas.
- Por ejemplo, los compuestos según la invención son útiles para el tratamiento del asma, rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, leucemia mielógena aguda, trasplante y aterosclerosis.
- 50 Por tanto, la presente invención, en un aspecto adicional, se refiere al uso de un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos tales como los mencionados antes.
- En particular, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de afecciones médicas o

inflamatorias dependientes de  $\alpha\beta 1$  y/o  $\alpha\beta 7$  tales como por ejemplo asma, rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, leucemia mielógena aguda, trasplante y aterosclerosis.

5 Los compuestos de la invención son útiles para tratar afecciones mediadas por mecanismos de adhesión. Estas enfermedades incluyen preferiblemente asma, rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, leucemia mielógena aguda, trasplante y aterosclerosis.

10 Los sujetos que necesitan tratamiento para una afección médica o inflamatoria dependiente de  $\alpha\beta 1$  y/o  $\alpha\beta 7$ , preferiblemente asma, rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, leucemia mielógena aguda, trasplante y aterosclerosis, pueden ser tratados administrando al paciente una cantidad eficaz de

15 uno o más de los compuestos identificados antes o uno de sus derivados o sales farmacéuticamente aceptables en un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para reducir la formación de radicales oxígeno. Los ingredientes activos pueden ser administrados por cualquier vía apropiada, por ejemplo, oralmente, parenteralmente, intravenosamente, intradérmicamente, subcutáneamente, intramuscularmente o tópicamente, en forma de líquido, crema, gel o sólido, por vía bucal o pulverización nasal, o en aerosol.

20 La invención se refiere además al uso de los compuestos de la fórmula I para la fabricación de un medicamento para aplicación terapéutica. En particular, la invención se refiere al uso de los compuestos de la fórmula I para la fabricación de un medicamento útil para tratar enfermedades en las que es probable que haya un componente dependiente de  $\alpha\beta 1$  y/o  $\alpha\beta 7$ . La invención se refiere al uso del compuesto de la fórmula I para la fabricación de un medicamento útil para tratar el asma, la rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, la leucemia mielógena aguda, trasplante y aterosclerosis.

25 La invención se refiere además a los compuestos de la fórmula I para uso como medicamentos. La invención se refiere a los compuestos de la fórmula I para uso como un medicamento para tratar el asma, la rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, la leucemia mielógena agua, trasplante y aterosclerosis.

30 La actividad y propiedades de los compuestos activos, la disponibilidad oral y la estabilidad in vitro o in vivo puede variar significativamente entre los isómeros ópticos de los compuestos descritos.

35 En una realización preferida, el compuesto activo se administra en una forma enriquecida enantioméricamente, esto es, sustancialmente en la forma de un isómero.

También se describe un método para tratar una afección médica o inflamatoria dependiente de  $\alpha\beta 1$  y/o  $\alpha\beta 7$  (preferiblemente asma, rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, leucemia mielógena agua, trasplante y aterosclerosis) en un mamífero que necesite dicho tratamiento, que comprende administrar a un paciente una dosis terapéutica de al menos un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

40 Dicho método comprende la administración a un mamífero (preferiblemente un ser humano) que padece las enfermedades o trastornos mencionados anteriormente, de un compuesto de acuerdo con la invención en una cantidad suficiente para aliviar o prevenir el trastorno o afección.

El compuesto se administra de forma conveniente en cualquier forma de dosificación unitaria adecuada, incluyendo pero sin limitación, una que contiene de 0,01 a 2000 mg, preferiblemente de 0,05 a 500 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

50 El término "tratamiento" como se usa en la presente memoria, incluye el tratamiento curativo y el tratamiento profiláctico.

El término "sustancialmente" tal como se usa en la presente memoria se refiere a una composición de o mayor que 95% de un isómero, y preferiblemente 98%.

Por "curativo" se expresa la eficacia en el tratamiento de un episodio sintomático común de un trastorno o afección.

Por "profiláctico" se expresa la prevención de la aparición o recurrencia de un trastorno o afección.

- Los compuestos son de uso para modular la adhesión celular en particular son de uso en la profilaxis y tratamiento de enfermedades o trastornos en los que extravasación leucocitaria juega un papel y la invención se extiende a tal uso y al uso de los compuestos para la fabricación de un medicamento para tratar tales enfermedades o trastornos,
- 5 Las enfermedades o trastornos de este tipo incluyen la artritis inflamatoria tal como artritis reumatoide, vasculitis o polidermatomiositis, esclerosis múltiple, trasplante, diabetes, dermatosis inflamatoria tal como psoriasis o dermatitis, asma y enfermedad inflamatoria de bowel.
- 10 También se describen métodos para el tratamiento de cánceres relacionados con  $\alpha 4$  (que incluyen cánceres, bien sólidos o hematopoyéticos). Ejemplos de tales cánceres incluyen, pero no se limitan a, cáncer de pulmón, por ejemplo de pulmón de células no pequeñas, pancreático, de próstata, renal, de cuello de útero, de ovarios, colorrectal, carcinoma mamario, endometrial, de vejiga, melanoma maligno, seminoma, de tiroides, leucemia mielógena aguda y gástrico.
- Los resultados obtenidos con los compuestos de fórmula I son indicativos de un fuerte efecto farmacológico.
- Para tratar enfermedades, los compuestos de la fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden emplear en una dosis diaria eficaz y se pueden administrar en la forma de una composición farmacéutica.
- 15 Por lo tanto, otra realización de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 Para preparar una composición farmacéutica según la invención, se mezclan íntimamente uno o más de los compuestos de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, con un diluyente o vehículo farmacéutico según técnicas convencionales de formulación farmacéutica conocidas por los técnicos expertos.
- Los diluyentes y vehículos adecuados pueden tomar una variedad de formas dependiendo de la vía de administración deseada, p.ej., oral, rectal, o parenteral.
- 25 Las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos según la invención pueden ser administradas, por ejemplo, oralmente o parenteralmente, esto es, intravenosamente, intramuscularmente, subcutáneamente o intratecalmente.
- Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden ser sólidos o líquidos y pueden estar, por ejemplo, en la forma de comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas de gelatina, soluciones, jarabes, y similares.
- 30 Con este fin, el ingrediente activo puede mezclarse con un diluyente inerte o un vehículo no tóxico farmacéuticamente aceptable tal como almidón o lactosa. Opcionalmente, estas composiciones farmacéuticas también pueden contener un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina, un disgregante tal como ácido algínico, un lubricante tal como estearato de magnesio, un emoliente tal como dióxido de silicio coloidal, un edulcorante tal como sacarosa o sacarina, o agentes colorantes o un agente aromatizante tal como menta o salicilato de metilo.
- 35 La invención también contempla composiciones que pueden liberar la sustancia activa de una manera controlada. Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse para administración parenteral están en formas convencionales tales como soluciones o suspensiones acuosas u oleosas generalmente contenidas en ampollas, jeringas desechables, viales de vidrio o de plástico o recipientes para perfusión.
- 40 Además del ingrediente activo, estas soluciones o suspensiones también pueden contener, opcionalmente, un diluyente estéril tal como agua para inyección, una solución salina fisiológica, aceites, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos, agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico, antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio, agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetracético, tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para ajustar la osmolaridad, tales como cloruro de sodio o dextrosa.
- Estas formas de dosificación se preparan usando métodos que se usan rutinariamente por los farmacéuticos.
- 45 La cantidad de ingrediente activo en las composiciones farmacéuticas puede estar dentro de un amplio intervalo de concentraciones y depende de una diversidad de factores tales como el sexo, edad, peso y condición médica del paciente, así como del método de administración. Por lo tanto la cantidad de compuesto de fórmula I en las composiciones para administración oral es al menos del 0,5% en peso y puede ser hasta el 80% en peso con respecto al peso total de la composición.
- Para las composiciones orales preferidas, la dosificación diaria está en el intervalo de 0,01 a 2000 miligramos (mg) de los compuestos de fórmula I.
- 50 En composición para administración parenteral, la cantidad del compuesto de compuesto de fórmula I presente es al menos del 0,5% en peso y puede ser hasta el 33% en peso con respecto al peso total de la composición. Para las composiciones parenterales preferidas, la dosificación unitaria está en el intervalo de 0,01 mg a 2000 mg de los compuestos de fórmula I.

La dosis diaria puede incluirse dentro de un amplio intervalo de unidades de dosificación del compuesto de fórmula I y se encuentra generalmente en el intervalo de 0,01 a 2000 mg. Sin embargo, se debe entender que las dosis específicas pueden ser adaptadas a casos particulares dependiendo de los requerimientos individuales, a discreción del médico.

5 Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines ilustrativos solamente y no se pretende, ni se deben interpretar, como limitantes de la invención de ninguna manera. Los expertos en la técnica apreciarán que se pueden realizar variaciones y modificaciones rutinarias de los siguientes ejemplos sin que se sobrepase el espíritu o el alcance de la invención.

Los nombres IUPAC de los compuestos mencionados en los ejemplos se generaron con ACD versión 6.00.

10 A menos que se especifique otra cosa en los ejemplos, la caracterización de los compuestos se realiza según los siguientes métodos:

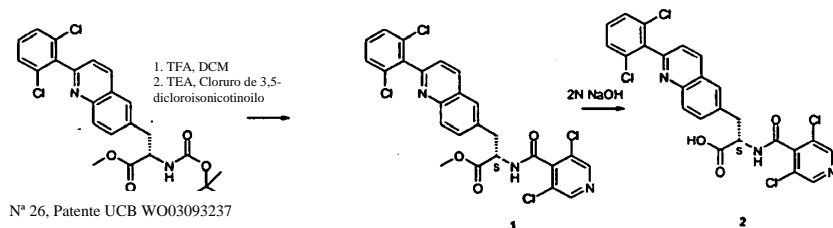
Los espectros NMR se registraron en un espectrómetro Bruker AV-300 o DRX-400 operando a 300,13 MHz o 400,13 MHz para protones, y ejecutando el paquete informático Bruker XWINNMR. Los espectros se adquirieron a temperatura ambiente a menos que se indique otra cosa. Los desplazamientos químicos se dan en ppm referenciados bien con respecto a TMS interno o a la señal del disolvente residual.

15 Los análisis de HPLC se realizaron utilizando uno de los siguientes sistemas: un HP 1100 (Diode Array) asociado a un Espectrómetro de Masas Finnigan LC-Q, modo ESI con ionización Pos/Neg, Detector de Longitud de Onda DAD 200-400 nm, montado con un LUNA C18(2), DP 5  $\mu$ m. columna analítica 100 X 4,6 mm. El gradiente circuló del disolvente A (agua + ácido fórmico al 0,08%) al disolvente B (acetonitrilo + ácido fórmico al 0,08%) en 6,5 min con un mantenimiento a 95% B de 9,7 min y a 5% B de 11,82 min. El caudal se establece a 3 ml/min. La cromatografía se realiza a 35°C.

20 En los ejemplos se usan las siguientes abreviaturas:

TFA	Ácido trifluoroacético
TEA	Trietilamina
DCM	Diclorometano
NaOH	Hidróxido de sodio
HCl	Ácido clorhídrico
NaHCO <sub>3</sub>	Hidrogenocarbonato de sodio
MgSO <sub>4</sub>	Sulfato de magnesio
THF	Tetrahidrofurano
MgCl H <sub>2</sub> O	Cloruro de magnesio monohidratado
NaCl	Cloruro de sodio
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
EtAc	Acetato de etilo
CaCl <sub>2</sub>	Cloruro de calcio
KCl	Cloruro de potasio
MnCl <sub>2</sub>	Cloruro de manganeso
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	Fosfato de sodio monobásico dihidratado
TMB	Tetrametil bencidina
PBS	Disolución salina tamponada con fosfato
TBS	Disolución salina tamponada con tris
ADP	Adenosina 5'-difosfato
BSA	Albúmina de suero bovino
FCS	Suero de ternera fetal
Temperatura ambiente	TA
P	Peso
V	Volumen

## Ejemplo 1: Síntesis de metil-(2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil]propanoato. (1)



El metil-(2S)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil]propanoato (compuesto No 26, solicitud de patente internacional WO 03/093237) (500mg, 1,05mmol) se disolvió en DCM (5ml) y se añadió gota a gota durante 10 minutos una disolución de TFA (0,8ml, 10,5mmol) en DCM (2ml). Después de que completarse la adición, la reacción se agitó a TA toda la noche. La reacción se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota durante 10 minutos TEA (2,1ml, 15,8mmol) en DCM (2ml). La reacción se enfrió a -10 °C y se añadió gota a gota durante 10 minutos cloruro de 3,5 dicloro-isonicotinoilo (Bioorg. Med Chem. Lett. 2002, 12, 1591-1594), (663mg, 3,0mmol), antes de permitir que la reacción se calentase a TA. Después de 1 hora la reacción se lavó con HCl acuoso (1N, 10ml), seguido de lavado con una disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (saturada, 10ml). La capa de DCM se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se eliminó a vacío para proporcionar un sólido blanco roto. El sólido se purificó usando cromatografía ultrarrápida (eluyente EtAc) para proporcionar el compuesto del título como un polvo blanco (432mg, 75%) LCMS M+1 (552, 550, 548), Tiempo de Retención 3,82min, 1H NMR, 300Mz, d<sub>6</sub>-DMSO - 9,50(1H, d), 8,63 (2H, s), 8,42 (1H, d), 7,98 (1H, d), 7,94 (1H, d), 7,78 (1H, dd), 7,65 (2H, d), 7,55 (2H, m), 4,95 (1H, m), 3,74 (3H, s), 3,45 (1H, dd), 3,20 (1H, dd).

## Ejemplo 2: Síntesis de ácido (2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil] propanoico. (2)

El metil-(2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil]propanoato (410mg, 0,75mmol) se disolvió en THF (2ml) y se añadió gota a gota durante 3 horas a una disolución acuosa agitada de NaOH (2M, 2,5ml). Después de que se completase la adición, la reacción se agitó a TA durante 1 hora, antes el THF se eliminó a vacío. La suspensión resultante se diluyó con agua (6ml) y se acidificó a pH=4 usando HCl (12M). El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua (15ml) y se secó toda la noche a vacío (40 °C) para proporcionar el producto deseado como un polvo blanco (274mg, 68%). LCMS M+1 (535, 537), M-1 (534, 536) Tiempo de Retención 3,39min, 1H NMR, 300Mz, d<sub>6</sub>-DMSO - 13,00 (1H, brs), 9,40(1H, d), 8,65 (2H, s), 8,42 (1H, d), 7,98 (1H, d), 7,94 (1H, d), 7,78 (1H, dd), 7,65 (2H, d), 7,54 (2H, m), 4,90 (1H, m), 3,45 (1H, brs), 3,20 (1H, dd). HPLC Chiral 97% ee Tiempo de Retención 6,29 min (Columna - CHIRALPAK AD 250\*4,6mm, 10µm; Disolvente A 1-Propanol + 0,1% TFA, Disolvente B Isohexano; 20% A: 80% B isocrático; Temperatura 40°C; Tiempo de ejecución 15 min; Detección 280nm).

## Ejemplo 3

Los siguientes ensayos celulares se usaron para demostrar la potencia y selectividad de los compuestos según la invención. En cada uno de estos ensayos se determinó un valor IC<sub>50</sub> para cada compuesto de ensayo y representa la concentración de compuesto necesaria para alcanzar 50% de inhibición de la adhesión celular en donde 100% = adhesión evaluada en ausencia del compuesto de ensayo y 0% = absorbancia en pocillos que no recibieron células.

## Adhesión de las células Jurkat a VCAM-Ig dependiente de integrinas α4β1:

Se recubrieron placas NUNC de 96 pocillos con fragmentos F(ab)<sub>2</sub> del anticuerpo específico de Fcγ anti IgG humana de cabra [Jackson Immuno Research 109-006-098: 100 µl a 2 µg/ml en NaHCO<sub>3</sub> 0,1M pH 8,4], toda la noche a 4°C. Las placas se lavaron (3x) en PBS y después se bloquearon durante 1h en PBS/ 1% BSA a TA en una plataforma de balanceo. Después de lavado (3x en PBS) se añadieron 9 ng/ml de VCAM2d -Ig purificada diluida en PBS/ 1% BSA y se dejaron las placas durante 60 minutos a TA en una plataforma de balanceo. Se lavaron las placas (3x en PBS) y a continuación se realizó el ensayo a 37°C durante 30 min en un volumen total de 200 µl que contiene 2,5 x 10<sup>5</sup> células de Jurkat en presencia o ausencia de los compuestos de ensayo del título.

Cada placa se lavó (2x) con medio y la células adherentes se fijaron con 100µl MeOH durante 10 minutos seguido de otro lavado. Se añadieron 100µl de Rose Bengal al 0,25% (Sigma R4507) en PBS durante 5 minutos a TA y se lavaron las placas (3x) en PBS. Se añadieron 100µl de EtOH al 50% (v/v) en PBS y se dejaron las placas durante 60min, midiéndose la absorbancia (570nm) después.

## Adhesión de células JY a MAdCAM-Ig dependiente de integrinas α4β7 :

Este ensayo se realizó de la misma forma que el ensayo de α4β1 excepto que se usó MAdCAM-Ig (150ng/ml) en lugar de VCAM 2d-Ig y se usó una sub-línea de la línea celular β-limfoblastoide en lugar de las células de Jurkat. Se determinó el valor IC<sub>50</sub> para cada compuesto de ensayo como se describe en el ensayo de la integrina α4β1:



Ensayo de unión de VCAM de sangre completa para las integrinas  $\alpha 4$ :

Se añadieron los siguientes reactivos a tubos FACS: 3 $\mu$ l de MnCl<sub>2</sub> 100mM (100X concentración requerida), 1 $\mu$ l de estreptavidina-FITC 1mg/ml (proveedor Pierce 100X concentración requerida), 2 $\mu$ l de hVCAM-1-mFc biotinilado 500  $\mu$ g/ml (50X concentración requerida) y 2 $\mu$ l de compuesto de ensayo diluido en serie a 50X las concentraciones finales deseadas. A continuación se añadieron 100 $\mu$ l de sangre heparinizada de donantes humanos sanos a cada tubo FACS que a continuación se sellaron y se mecieron durante 30 minutos a TA. Se añadieron 2ml de "Disolución Lisante FACS" (BD Biosciences) a los tubos durante 5 minutos a TA, y los tubos se centrifugaron a 1200 rpm y se lavaron 2X en 3ml de TBS, antes de la suspensión final en 100 $\mu$ l de TBS. A continuación se realizó la citometría de flujo en un Becton Dickinson FACScan para evaluar el % de células en el canal linfocitario capaz de unirse a VCAM.

10 Adhesión de células K562 a fibronectina dependiente de integrinas  $\alpha 5\beta 1$ :

Las placas de cultivo de 96 pocillos se recubrieron con fibronectina de plasma humano (Sigma F0895) a 5 $\mu$ g/ml en PBS durante 2 h a 37°C. Las placas se lavaron (3x) en PBS y después se bloquearon durante 1h en 100 $\mu$ l de PBS/ 1% BSA a TA en una plataforma de balanceo. Las placas bloqueadas se lavaron (3x en PBS) y a continuación se realizó el ensayo a 37°C en un volumen total de 200 $\mu$ l que contenía 2,5x 10<sup>5</sup> de células K562, forbol-12-miristato-13-acetato a 10ng/ml, y en presencia o ausencia de los compuestos de ensayo del título. El tiempo de incubación era 30 minutos. Cada placa se fijó y se tiñó como se describe en el ensayo de  $\alpha 4\beta 1$  anteriormente.

Adhesión de neutrófilos polimorfonucleares humanos a plástico dependiente de  $\alpha m\beta 2$ :

Las placas de cultivo tisular de 96 pocillos se recubrieron con RPMI 1640/FCS al 10% durante 2h a 37°C. Se añadieron a los pocillo 2 x 10<sup>5</sup> neutrófilos polimorfonucleares venosos humanos recientemente aislados (PMN) en un volumen total de 200  $\mu$ l en presencia de 10ng/ml de forbol-12-miristato-13-acetato, y en presencia o ausencia de los compuestos de ensayo, y se incubaron durante 20min a 37°C seguido de 30 min a temperatura ambiente TA. Las placas se lavaron en medio y se añadieron a cada pocillo 100 $\mu$ l de bromuro de hexadecil trimetil amonio al 0,1% (p/v) (Sigma H5882) en tampón fosfato de potasio 0,05M, pH 6,0. Las placas a continuación se dejaron en un balancín a temperatura ambiente TA durante 60 min. Se evaluó a continuación la actividad endógena de la peroxidasa usando TMB como se indica a continuación: Las muestras de lisado de PMN se mezclaron con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0,22% Sigma) y TMB a 50 $\mu$ g/ml (Boehringer Mannheim) en acetato de sodio 0,1M/tampón citrato, pH 6,0 y la absorbancia se midió a 630nm.

agregación plaquetaria humana dependiente de  $\alpha IIb/\beta 3$ :

La agregación plaquetaria humana se evaluó usando la agregación por impedancia en el Lumiagregómetro de Sangre Completa Chronolog. El plasma humano rico en plaquetas (PRP) se obtuvo mediante centrifugado de sangre venosa humana fresca anticoagulada con citrato de sodio al 0,38% (v/v) a 220xg durante 10 min y diluido a una densidad celular de 6 x 10<sup>8</sup>/ml en una plasma autólogo. Las cubetas contenían volúmenes iguales de PRP y tampón de Tyrode filtrado (g/litro: NaCl 8,0; MgCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O 0,427; CaCl<sub>2</sub> 0,2; KCl 0,2; D-glucosa 1,0; NaHCO<sub>3</sub> 1,0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,065). La agregación se monitorizó después de la adición de ADP (Sigma) 2,5 $\mu$ M en presencia o ausencia de inhibidores.

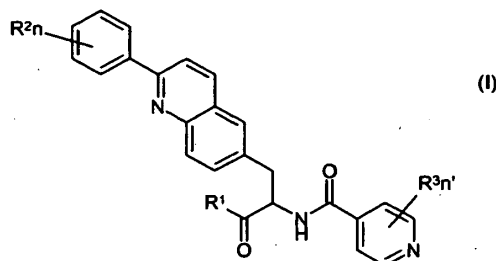
Adhesión de JY a vitronectina dependiente de integrinas  $\alpha v\beta 3$ :

Las placas NUNC de 96 pocillos se recubrieron con vitronectina humana (Promega) a 2,5 $\mu$ g/ml en PBS durante 2 horas a 37°C. Las placas se lavaron (2x) en PBS y después se bloquearon durante 1h en 100 $\mu$ l de PBS/ 1% BSA a TA en una plataforma de balanceo. Las placas bloqueadas se lavaron a continuación (2x en PBS) y a continuación se realizó el ensayo a 37°C en un volumen total de 200 $\mu$ l que contenía 2X10<sup>5</sup> células JY, forbol-12-miristato-13-acetato a 10ng/ml, y en presencia o ausencia del compuesto de ensayo del título. Las células JY se preincubaron durante 15 minutos con 5  $\mu$ g/ml de anticuerpo monoclonal frente a las integrinas  $\beta 2$ , denominadas 6.5E, para prevenir la unión no específica dependiente de  $\beta 2$ . Cada placa se fijó y se tiñó como se describe anteriormente en el ensayo de  $\alpha 4\beta 1$ .

En los ensayos anteriores, los compuestos de la invención, tales como los compuestos de los ejemplos, tienen generalmente valores IC<sub>50</sub> en el ensayo  $\alpha 4\beta 1$  de 1 $\mu$ M y por debajo y en el ensayo  $\alpha 4\beta 7$  de 1 $\mu$ M y por debajo. En los otros ensayos en donde intervienen integrinas  $\alpha$  de otros subgrupos los mismos compuestos tenían valores de IC<sub>50</sub> de > 50  $\mu$ M y así anteriormente se demuestra la potencia y selectividad de su acción frente a las integrinas  $\alpha 4$ .

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto que tiene la fórmula I, sus enantiómeros, diastereoisómeros o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables,



- 5 en la que:
- R1 es hidrógeno, hidroxilo o alquilo C 1-6;
- R2 es hidrógeno o halógeno;
- n es de 0 a 5;
- R3 es hidrógeno, o halógeno;
- 10 n' es de 0 a 4.
2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
- R1 es hidroxilo o metoxi;
- R2 es cloro;
- n es 2;
- 15 R3 es cloro
- n' es 2.
3. Un compuesto según las reivindicaciones 1 y 2 en el que, el átomo de carbono asimétrico está en la configuración "S".
- 20 4. Un compuesto según la reivindicación 1 seleccionado de metil-(2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil]propanoato y ácido (2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil]propanoico.
5. El compuesto ácido (2S)-2-[(3,5-dicloroisonicotinoil)amino]-3-[2-(2,6-diclorofenil)-6-quinolinil] propanoico.
- 25 6. Una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para uso como un medicamento.
8. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un medicamento.
9. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de afecciones médicas o inflamatorias dependientes de  $\alpha 4\beta 1$  y/o  $\alpha 4\beta 7$ .
- 30 10. Uso de un compuesto según las reivindicaciones 8 o 9, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de asma, rinitis alérgica, sinusitis, conjuntivitis, alergia a los alimentos, trastornos inflamatorios de la piel incluyendo dermatitis, psoriasis, urticaria, prurito y eczema, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes, leucemia mielógena aguda, trasplante y aterosclerosis.
- 35 11. Uso según las reivindicaciones 8 o 9 para la fabricación de un medicamento para los cánceres relacionados con  $\alpha 4$ .