

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 262**

51 Int. Cl.:

C07C 215/42 (2006.01)

A61K 31/133 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.02.2014** **PCT/US2014/017534**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2014** **WO2014130752**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2014** **E 14709822 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016** **EP 2958888**

54 Título: **Compuestos bicíclicos**

30 Prioridad:

21.02.2013 US 201361767531 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.05.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

DHAR, T. G. MURALI;
XIAO, HAI-YUN;
DYCKMAN, ALARIC J.;
CHAN, ERIC J.;
DABROS, MARTA y
ROBERTS, DANIEL RICHARD

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 613 262 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

Compuestos bicíclicos

La presente invención se refiere, en general, a compuestos bicíclicos útiles como agonistas de S1P₁. En el presente documento se proporcionan compuestos bicíclicos, composiciones que comprenden dichos compuestos, y dichos compuestos para su uso en terapia. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de acuerdo con la invención, que es útil para el tratamiento de afecciones relacionadas con la modulación de S1P₁, tales como enfermedades autoinmunitarias y enfermedades vasculares.

La esfingosina-1-fosfato (S1P) es un metabolito lisofosfolipídico zwitteriónico de la esfingosina (Sph) que, a su vez, se obtiene de la escisión enzimática de las ceramidas. La fosforilación enzimática de Sph por parte de dos quinasas (SphK1 y SphK2) conduce a la producción de S1P en gran medida de los eritrocitos, pero también de una fuente resistente a la radiación, posiblemente el endotelio linfático (Pappu, R. et al. *Science* 2007, 316, 295–298). Si bien en un principio se pensaba que S1P funcionaba únicamente como una molécula de señalización intracelular, posteriormente se identificó como un ligando de alta afinidad de cinco miembros de la clase de genes de diferenciación endotelial (EDG) de los receptores acoplados a la proteína G (GPCR) denominados S1P₁ o S1P₁, S1P₂ o S1P₂, S1P₃ o S1P₃, S1P₄ o S1P₄, y S1P₅ o S1P₅ (antes denominados EDG-1, EDG-5, EDG-3, EDG-6 y EDG-8, respectivamente) (Chun, J. et al. *Pharmacological Rev.* 2010, 62, 579-587). La interacción entre S1P y los receptores de S1P cumple una función fisiológica fundamental en una gran cantidad de procesos, que incluyen la proliferación celular, la morfología celular, la invasión de células tumorales, la angiogénesis, la tumorigénesis, la redistribución citoesquelética, el desarrollo vascular y el tráfico de linfocitos (Olivera, A; Rivera, J. *Adv Exp Med Biol.* 2011, 716, 123-142). Por lo tanto, los receptores de S1P son dianas de interés para una amplia variedad de aplicaciones terapéuticas, tales como la inhibición del crecimiento tumoral, las enfermedades vasculares y las enfermedades autoinmunitarias.

Entre los cinco receptores de S1P, S1P₁ está ampliamente distribuido. Es el miembro predominante de la familia que se expresa en los linfocitos y tiene una función importante en el tráfico de linfocitos. La interacción entre S1P y su receptor S1P₁ es necesaria para que las células inmunitarias salgan de los órganos linfáticos (tales como el timo y los ganglios linfáticos) e ingresen en los vasos linfáticos. La regulación descendente del receptor S1P₁ (que se puede lograr mediante el tratamiento con agonistas de S1P₁ por medio de la internalización del receptor) interrumpe la migración y el retorno de los linfocitos en varios tejidos. Esto produce el secuestro de los linfocitos en los órganos linfáticos, lo cual disminuye la cantidad de linfocitos en circulación capaces de migrar a los tejidos afectados. El desarrollo de un agente modulador del receptor S1P₁ que suprima la migración linfocítica a los sitios diana asociados a los procesos inflamatorios anómalos y autoinmunitarios podría ser de utilidad en varias condiciones patológicas autoinmunitarias e inflamatorias.

Las siguientes solicitudes han descrito compuestos como agonistas de S1P₁: WO 03/061567 (publicación de patente de Estados Unidos n.º 2005/0070506), WO 03/062248 (patente de Estados Unidos n.º 7.351.725), WO 03/062252 (patente de Estados Unidos n.º 7.479.504), WO 03/073986 (patente de Estados Unidos n.º 7.309.721), WO 03/105771, WO 05/058848, WO 05/000833, WO 05/082089 (publicación de patente de Estados Unidos n.º 2007/0203100), WO 06/047195, WO 06/100633, WO 06/115188, WO 06/131336, WO 2007/024922, WO 07/109330, WO 07/116866, WO 08/023783 (publicación de patente de Estados Unidos n.º 2008/0200535), WO 08/029370, WO 08/074820, WO 08/079382, WO 08/114157, WO 09/043889, WO 09/057079, y patente de Estados Unidos n.º 6.069.143. Véase también Hale et al., *J. Med. Chem.*, 47: 6662 (2004).

Aún es necesario obtener compuestos que sean útiles como agonistas de S1P₁ y al mismo tiempo tengan selectividad sobre S1P₃. Además, aún es necesario obtener compuestos útiles como agonistas de S1P₁ que tengan selectividad sobre S1P₃ y también tengan un efecto pulmonar mínimo o ningún efecto deseable.

Los solicitantes han descubierto compuestos potentes que tienen actividad como agonistas de S1P₁. Asimismo, los solicitantes han descubierto compuestos que tienen actividad como agonistas de S1P₁ y son selectivos sobre S1P₃. Aún adicionalmente, los solicitantes han descubierto compuestos que tienen actividad como agonistas de S1P₁, son selectivos con respecto a S1P₃ y no tienen efectos pulmonares indeseables o cuyos efectos pulmonares no deseables son mínimos. Estos compuestos se proporcionan por ser de utilidad como compuestos farmacéuticos con valores deseables de estabilidad, biodisponibilidad, índice terapéutico y toxicidad, que son importantes para su accesibilidad a fármacos.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona compuestos bicíclicos, que son útiles como moduladores de la actividad de S1P₁, incluyendo sales de los mismos.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un compuesto de Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a la actividad del receptor de S1P₁ acoplado a la proteína G.

- 5 La presente invención también proporciona procesos e intermediarios para obtener los compuestos de la Fórmula (I) y/o sus sales.

La presente invención también proporciona un compuesto de la Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

- 10 La presente invención también proporciona el uso de los compuestos de la Fórmula (I) y/o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de afecciones relacionadas con el receptor de S1P₁, tales como enfermedades autoinmunitarias y vasculares.

- 15 Los compuestos de la Fórmula (I) y las composiciones que comprenden los compuestos de la Fórmula (I) se pueden usar para el tratamiento, la prevención o la cura de varias afecciones relacionadas con S1P₁. Las composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos son útiles para el tratamiento, la prevención o la ralentización del avance de enfermedades o trastornos en varias áreas terapéuticas, tales como enfermedades autoinmunitarias y vasculares.

Estas y otras características de la invención se explicarán en más detalle a lo largo de la divulgación.

Breve descripción de los dibujos

- 25 La invención se ilustra con referencia a los dibujos adjuntos que se describen a continuación.

La figura 1 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma N-1 del compuesto del Ejemplo 2.

- 30 La figura 2 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma H-1 monohidrato de la sal mono-HCl del compuesto del Ejemplo 2.

La figura 3 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma H-2 monohidrato de la sal mono-HCl del compuesto del Ejemplo 2.

- 35 La figura 4 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma N-3 de la sal mono-HCl del compuesto del Ejemplo 2.

La figura 5 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma N-4 de la sal mono-HCl del compuesto del Ejemplo 2.

La figura 6 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma H-1 monohidrato de la sal hemi-L-málica del compuesto del Ejemplo 2.

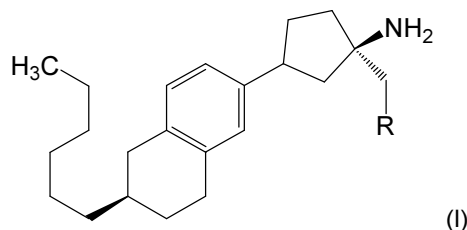
- 40 La figura 7 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma H-1 monohidrato de la sal hemi-malónica del compuesto del Ejemplo 2.

La figura 8 muestra los datos experimentales y los patrones de PXRD simulados ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ aproximadamente a 25 °C) de la Forma H-33-1 1/3-hidrato de la sal del ácido 2/3-fosfórico del compuesto del Ejemplo 2.

- 45 La figura 9 muestra el patrón de PXRD simulado, calculado a -70 °C ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) de la Forma N-1 de la sal del ácido R-(+)-mandélico del compuesto del Ejemplo 2.

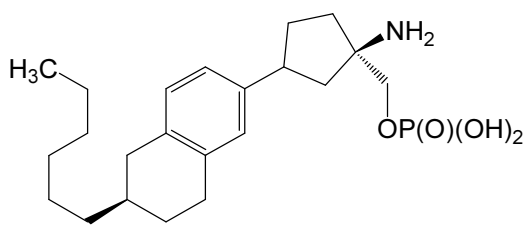
Descripción detallada

- 50 El primer aspecto de la presente invención proporciona al menos un compuesto de la Fórmula (I):

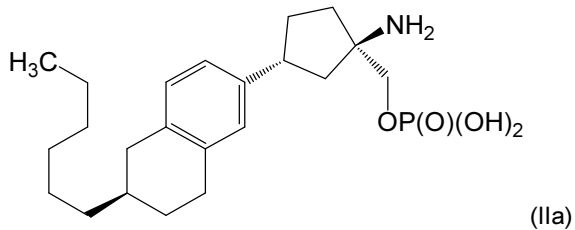


y/o una sal del mismo; en la que R es -OH u -OP(O)(OH)₂.

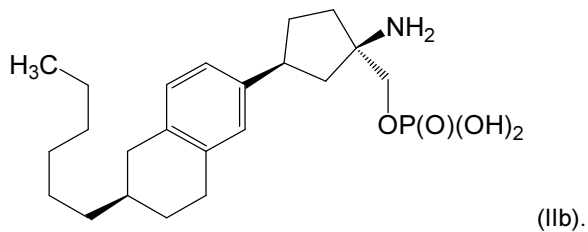
- 55 Una realización proporciona compuestos de la Fórmula (I) y/o sales de los mismos, en la que R es -OP(O)(OH)₂. Los compuestos de esta realización tienen la estructura de la Fórmula (II):



En esta realización se incluye el compuesto de la Fórmula (IIa) y

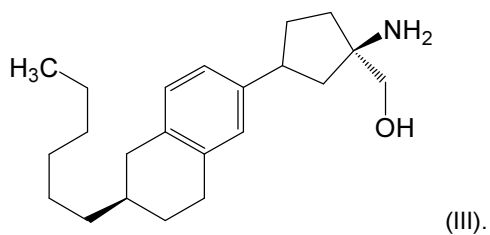


y el compuesto de la Fórmula (IIb):

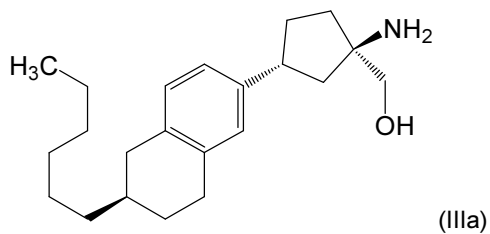


Los compuestos de la Fórmula (II) y/o las sales de los mismos son útiles como agonistas selectivos de S1P₁.

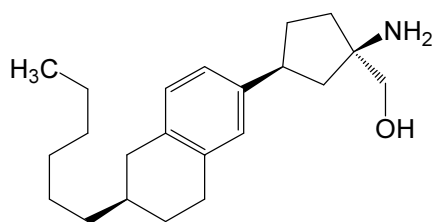
Una realización proporciona compuestos de la Fórmula (I) y/o sales de los mismos, en la que R es -OH. Los compuestos de esta realización tienen la estructura de la Fórmula (III):



En esta realización se incluye el compuesto de la Fórmula (IIIa) y



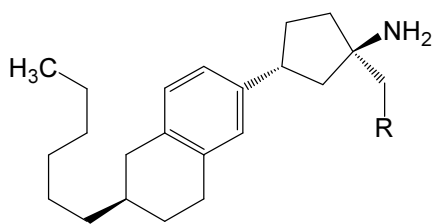
y el compuesto de la Fórmula (IIIb):



(IIIb).

5 Los compuestos de la Fórmula (III) y/o las sales de los mismos son útiles como profármacos de los compuestos de la Fórmula (II). Los compuestos de la Fórmula (III) se activan *in vivo* mediante la fosforilación para proporcionar los compuestos de la Fórmula (II). Los compuestos de la Fórmula (II) son activos como agonistas selectivos de S1P₁.

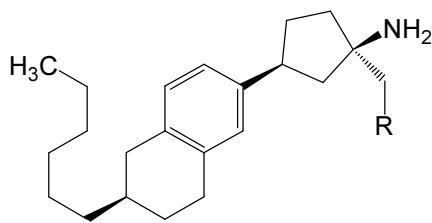
Una realización proporciona compuestos de la Fórmula (I) y/o sales de los mismos que tienen la estructura de la Fórmula (IV):



(IV)

10 en la que R es -OH u -OP(O)(OH)₂. En esta realización se incluyen los compuestos de la Fórmula (IIa) y la Fórmula (IIIa).

15 Una realización proporciona compuestos de la Fórmula (I) y/o sales de los mismos que tienen la estructura de la Fórmula (V):



(V)

20 en la que R es -OH u -OP(O)(OH)₂. En esta realización se incluyen los compuestos de la Fórmula (IIb) y la Fórmula (IIIb).

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIa) y/o las sales del mismo.

25 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIb) y/o las sales del mismo.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIa) y/o las sales del mismo.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb) y/o las sales del mismo.

30 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIa).

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIb).

35 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIa).

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb).

Una realización proporciona una o más sales del compuesto de la Fórmula (IIa).

40 Una realización proporciona una o más sales del compuesto de la Fórmula (IIb).

Una realización proporciona una o más sales del compuesto de la Fórmula (IIIa).

Una realización proporciona una o más sales del compuesto de la Fórmula (IIIb).

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (III) como una sal HCl.

5 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIa) como una sal HCl.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb) como una sal HCl.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (III) como una sal del ácido fosfórico.

10 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIa) como una sal del ácido fosfórico.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb) como una sal del ácido fosfórico.

15 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb) como una sal del ácido L-málico.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (III) como una sal del ácido malónico.

20 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIa) como una sal del ácido malónico.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb) como una sal del ácido malónico.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb) como una sal del ácido *R*-(+)-mandélico.

25 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (III) como una sal seleccionada de sal HCl, sal del ácido fosfórico y sal del ácido malónico.

Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIa) como una sal seleccionada de sal HCl, sal del ácido fosfórico y sal del ácido malónico.

30 Una realización proporciona el compuesto de la Fórmula (IIIb) como una sal seleccionada de sal HCl, sal del ácido fosfórico, sal del ácido L-málico, sal del ácido malónico y sal del ácido *R*-(+)-mandélico.

35 Una realización proporciona un compuesto seleccionado de ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol y ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol; y sales de los mismos.

40 Una realización proporciona un compuesto seleccionado de dihidrogenofosfato de ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo y dihidrogenofosfato de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo; y sales de los mismos.

45 Una realización proporciona un compuesto seleccionado de ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol y dihidrogenofosfato de ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo; y sales de los mismos.

Una realización proporciona un compuesto seleccionado de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol y dihidrogenofosfato de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo; y sales de los mismos.

50 Sales y formas cristalinas del compuesto del Ejemplo 2

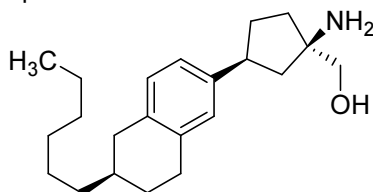
Tabla 1

Sales y formas cristalinas del Ejemplo 2	
Ejemplo 2	Forma
Base libre	N-1
sal mono-HCl (monohidrato)	H-1
sal mono-HCl (monohidrato)	H-2
sal mono-HCl	N-3
sal mono-HCl	N-4
sal del ácido hemi-L-málico (monohidrato)	H-1
sal del ácido hemi-malónico (monohidrato)	H-1
sal del ácido 2/3-fosfórico (1/3-hidrato)	H.33-1

Sal del ácido R-(+)-mandélico	N-1
-------------------------------	-----

Forma N-1 del Ejemplo 2, base libre

En una realización, el compuesto del Ejemplo 2



se proporciona como un material cristalino que comprende la primera forma cristalina. La primera forma cristalina del compuesto del Ejemplo 2 comprende una forma cristalina pura que, en el presente documento, se denomina "Forma N-1" del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 5,54 \text{ \AA}$
 $b = 7,37 \text{ \AA}$
 $c = 48,85 \text{ \AA}$
 $\alpha = 90,0^\circ$
 $\beta = 90,0^\circ$
 $\gamma = 90,0^\circ$

Grupo espacial: $P2_12_12_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 1

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $499 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,098 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma N-1 del Ejemplo 2 se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 1 y/o por un patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 1.

Aun en otra realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $3,6 \pm 0,2$, $7,2 \pm 0,2$, $12,5 \pm 0,2$, $14,0 \pm 0,2$, $15,0 \pm 0,2$, $17,5 \pm 0,2$, $19,4 \pm 0,2$, $20,4 \pm 0,2$ y $23,8 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD de la Forma N-1 se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Aun en otra realización, la forma N-1 del Ejemplo 2 es sustancialmente pura.

Aun en otra realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2 contiene al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la Forma N-1 del Ejemplo 2.

Aun en otra realización, una Forma N-1 sustancialmente pura del Ejemplo 2 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 10 %, preferiblemente, menos de aproximadamente el 5 % y, más preferiblemente, menos de aproximadamente el 2 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado. Más preferiblemente, la Forma N-1 cristalina sustancialmente pura del Ejemplo 2 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 1 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

En otra realización, la forma cristalina del Ejemplo 2 consiste básicamente en la Forma N-1. La forma cristalina de esta realización puede comprender al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la forma cristalina, la Forma N-1 del Ejemplo 2.

Aun en otra realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la Forma N-1 del Ejemplo 2, y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aun en otra realización, una composición farmacéutica comprende la Forma N-1 sustancialmente pura del Ejemplo 2, y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aun en otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la Forma N-1 del Ejemplo 2 se combina con al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable, a fin de proporcionar al menos una composición farmacéutica.

Salas de HCl del Ejemplo 2

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido clorhídrico.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido monoclórhídrico que comprende 1 mol de HCl por cada mol del Ejemplo 2.

En una realización, la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 se proporciona como un material cristalino que comprende una o más formas cristalinas. Los ejemplos de las formas cristalinas adecuadas de la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 incluyen las Formas H-1, H-2, N-3 y N-4.

En una realización, la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 se proporciona como un monohidrato.

En una realización, la sal del ácido monoclórhídrico monohidrato del Ejemplo 2 se proporciona como un material cristalino que comprende una o más formas cristalinas. Los ejemplos de las formas cristalinas adecuadas de la sal del ácido monoclórhídrico monohidrato del Ejemplo 2 incluyen las Formas H-1 y H-2.

En una realización, la sal del ácido monoclórhídrico monohidrato del Ejemplo 2 se proporciona en una segunda forma cristalina denominada en el presente documento "Forma H-1" del Ejemplo 2, sal HCl. La Forma H-1 del Ejemplo 2, sal HCl comprende una molécula de agua y una molécula de HCl por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma H-1 de la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 6,30 \text{ \AA}$
 $b = 6,42 \text{ \AA}$
 $c = 55,28 \text{ \AA}$
 $\alpha = 90,0^\circ$
 $\beta = 90,0^\circ$
 $\gamma = 90,0^\circ$

Grupo espacial: $P2_12_12_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 1

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $560 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,14 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma H-1 de la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma H-1 de la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 2 y/o por un patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de PXRD de la figura 2.

Aun en otra realización, la Forma H-1 monohidrato de la sal mono-HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $3,2 \pm 0,2$, $6,4 \pm 0,2$, $9,6 \pm 0,2$, $13,9 \pm 0,2$, $14,6 \pm 0,2$, $17,0 \pm 0,2$, $19,0 \pm 0,2$, $20,1 \pm 0,2$, $21,3 \pm 0,2$, $21,9 \pm 0,2$ y $24,5 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Aun en otra realización, la Forma H-1 de la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 es sustancialmente pura.

Aun en otra realización, la Forma H-1 de la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 contiene al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la segunda forma cristalina, la

Forma H-1 del Ejemplo 2, sal HCl.

Aun en otra realización, una segunda forma cristalina sustancialmente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 10 %, preferiblemente, menos de aproximadamente el 5 % y, más preferiblemente, menos de aproximadamente el 2 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado. Más preferiblemente, una segunda forma cristalina sustancialmente pura tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 1 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

En otra realización, la segunda forma cristalina de la sal mono-HCl del Ejemplo 2 consiste básicamente en la Forma H-1. La segunda forma cristalina de esta realización puede comprender al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la segunda forma cristalina, la Forma H-1.

En una realización, la sal del ácido monoclórhídrico monohidrato del Ejemplo 2 se proporciona en una tercera forma cristalina denominada en el presente documento "Forma H-2" del Ejemplo 2, sal HCl. La Forma H-2 del Ejemplo 2, sal HCl comprende una molécula de agua y una molécula de HCl por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma H-2 de la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 6,30 \text{ \AA}$
 $b = 6,43 \text{ \AA}$
 $c = 27,88 \text{ \AA}$
 $\alpha = 90,0^\circ$
 $\beta = 96,0^\circ$
 $\gamma = 90,0^\circ$

Grupo espacial: $P2_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 1

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $562 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,135 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma H-2 del Ejemplo 2, sal HCl se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma H-2 del Ejemplo 2, sal HCl se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 3 y/o por un patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 3.

Aun en otra realización, la Forma H-2 monohidrato de la sal mono-HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $3,2 \pm 0,2$, $6,4 \pm 0,2$, $9,6 \pm 0,2$, $14,1 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $16,8 \pm 0,2$, $18,8 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $21,3 \pm 0,2$, $22,6 \pm 0,2$ y $26,6 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Aun en otra realización, la Forma H-2 del Ejemplo 2, sal HCl es sustancialmente pura.

Aun en otra realización, la Forma H-2 del Ejemplo 2, sal HCl contiene al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la tercera forma cristalina.

Aun en otra realización, una Forma H-2 sustancialmente pura del Ejemplo 2, sal de HCl tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 10 %, preferiblemente, menos de aproximadamente el 5 % y, más preferiblemente, menos de aproximadamente el 2 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado. Más preferiblemente, la Forma H-2 sustancialmente cristalina del Ejemplo 2, sal de HCl tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 1 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

En otra realización, la tercera forma cristalina del compuesto del Ejemplo 2 consiste básicamente en la Forma H-2 del Ejemplo 2, sal HCl. La tercera forma cristalina de esta realización puede comprender al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos

aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la tercera forma cristalina.

En una realización, la sal del ácido monoclórhídrico del Ejemplo 2 se proporciona como un material cristalino puro que comprende una o más formas cristalinas. Los ejemplos de las formas cristalinas adecuadas de la sal del ácido monoclórhídrico puro del Ejemplo 2 incluyen las Formas N-3 y N-4.

En una realización, la sal del ácido monoclórhídrico puro del Ejemplo 2 se proporciona en una cuarta forma cristalina denominada en el presente documento "Forma N-3" del Ejemplo 2, sal HCl. La Forma N-3 del Ejemplo 2, sal HCl comprende una molécula de HCl por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma N-3 de la sal HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$$\begin{aligned} a &= 5,98 \text{ \AA} \\ b &= 7,24 \text{ \AA} \\ c &= 25,74 \text{ \AA} \\ \alpha &= 90,0^\circ \\ \beta &= 91,7^\circ \\ \gamma &= 90,0^\circ \end{aligned}$$

Grupo espacial: $P2_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 1

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $556 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,092 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma N-3 de la sal de HCl del Ejemplo 2 se miden a una temperatura de aproximadamente 27°C .

En una realización, la Forma N-3 de la sal HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$$\begin{aligned} a &= 5,93 \text{ \AA} \\ b &= 7,20 \text{ \AA} \\ c &= 25,24 \text{ \AA} \\ \alpha &= 90,0^\circ \\ \beta &= 90,2^\circ \\ \gamma &= 90,0^\circ \end{aligned}$$

Grupo espacial: $P2_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 1

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $538 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,128 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma N-3 de la sal de HCl del Ejemplo 2 se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma N-3 del Ejemplo 2, sal HCl se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 4 y/o por un patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 4.

Aun en otra realización, la Forma N-3 de la sal mono-HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $3,4 \pm 0,2$, $6,9 \pm 0,2$, $10,4 \pm 0,2$, $12,7 \pm 0,2$, $14,0 \pm 0,2$, $16,1 \pm 0,2$, $19,7 \pm 0,2$, $20,6 \pm 0,2$, $22,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Aun en otra realización, la Forma N-3 de la sal HCl del Ejemplo 2 es sustancialmente pura.

Aun en otra realización, la Forma N-3 de la sal de HCl del Ejemplo 2 contiene al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la cuarta forma cristalina, la Forma N-3.

Aun en otra realización, una Forma N-3 sustancialmente pura de la sal de HCl del Ejemplo 2 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 10 %, preferiblemente, menos de aproximadamente el 5 % y, más preferiblemente, menos de aproximadamente el 2 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

Más preferiblemente, la Forma N-3 sustancialmente cristalina de la sal de HCl del Ejemplo 2 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 1 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

Aun en otra realización, la Forma N-3 de la sal HCl del Ejemplo 2 es sustancialmente pura.

En otra realización, la forma cristalina del Ejemplo 2 consiste básicamente en la Forma N-3. La forma cristalina de esta realización puede comprender al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la forma cristalina, la Forma N-3 del Ejemplo 2.

Aun en otra realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la Forma N-3 del Ejemplo 2, y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aun en otra realización, una composición farmacéutica comprende la Forma N-3 sustancialmente pura del Ejemplo 2, y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aun en otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la Forma N-3 del Ejemplo 2 se combina con al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable, a fin de proporcionar al menos una composición farmacéutica.

En otra realización, la cuarta forma cristalina de la sal HCl del Ejemplo 2 consiste básicamente en la Forma N-3. La cuarta forma cristalina de esta realización puede comprender al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la cuarta forma cristalina, la Forma N-3.

En una realización, la sal del ácido monoclórico puro del Ejemplo 2 se proporciona en una quinta forma cristalina denominada en el presente documento "Forma N-4" del Ejemplo 2, sal HCl. La Forma N-4 del Ejemplo 2, sal HCl comprende una molécula de HCl por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma N-4 de la sal HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$$a = 5,95 \text{ \AA}$$

$$b = 7,27 \text{ \AA}$$

$$c = 51,60 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,0^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Grupo espacial: $P2_12_12_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 1

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $558 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,088 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma N-4 del Ejemplo 2, sal HCl se miden a una temperatura de aproximadamente 27°C .

En una realización, la Forma N-4 de la sal HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$$a = 5,92 \text{ \AA}$$

$$b = 7,25 \text{ \AA}$$

$$c = 50,61 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,0^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Grupo espacial: $P2_12_12_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 1
 Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $543 \text{ \AA}^3$
 Densidad (calculada) = $1,119 \text{ g/cm}^3$,

5 en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma N-4 del Ejemplo 2, sal HCl se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

10 En otra realización, la Forma N-4 del Ejemplo 2, sal HCl se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 5 y/o por un patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 5.

15 Aun en otra realización, la Forma N-4 de la sal mono-HCl del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha \lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $3,4 \pm 0,2$, $6,9 \pm 0,2$, $10,3 \pm 0,2$, $12,7 \pm 0,2$, $13,3 \pm 0,2$, $15,0 \pm 0,2$, $19,7 \pm 0,2$, $20,4 \pm 0,2$, $21,2 \pm 0,2$, $22,9 \pm 0,2$ y $24,9 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Aun en otra realización, la Forma N-4 de la sal HCl del Ejemplo 2 es sustancialmente pura.

20 Aun en otra realización, la Forma N-4 de la sal de HCl del Ejemplo 2 contiene al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la cuarta forma cristalina, la Forma N-4.

25 Aun en otra realización, una Forma N-4 sustancialmente pura de la sal de HCl del Ejemplo 2 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 10 %, preferiblemente, menos de aproximadamente el 5 % y, más preferiblemente, menos de aproximadamente el 2 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado. Más preferiblemente, la Forma N-4 sustancialmente cristalina de la sal de HCl del Ejemplo 2 tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 1 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

Aun en otra realización, la Forma N-4 de la sal HCl del Ejemplo 2 es sustancialmente pura.

35 En otra realización, la forma cristalina del Ejemplo 2 consiste básicamente en la Forma N-4. La forma cristalina de esta realización puede comprender al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la forma cristalina, la Forma N-4 del Ejemplo 2.

40 Aun en otra realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la Forma N-4 del Ejemplo 2, y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aun en otra realización, una composición farmacéutica comprende la Forma N-4 sustancialmente pura del Ejemplo 2, y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

45 Aun en otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la Forma N-4 del Ejemplo 2 se combina con al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable, a fin de proporcionar al menos una composición farmacéutica.

50 En una realización, se proporciona una composición que comprende la Forma N-3, Forma N-4 o una mezcla de estas de la sal del ácido monoclorhídrico puro del Ejemplo 2.

Sal del ácido L-málico

55 En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido L-málico.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido hemi-L-málico que comprende 0,5 moles de ácido L-málico por cada mol del Ejemplo 2.

60 En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido hemi-L-málico monohidrato que comprende 1 mol de agua y 0,5 moles de ácido L-málico por cada mol del Ejemplo 2.

65 En una realización, la sal del ácido hemi-L-málico monohidrato del Ejemplo 2 se proporciona en una sexta forma cristalina denominada en el presente documento "Forma H-1" del Ejemplo 2, sal del ácido hemi-L-málico. La Forma H-1 del Ejemplo 2, sal del ácido hemi-L-málico comprende una molécula de agua y 0,5 de molécula de ácido L-málico por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-L-málico del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 6,13 \text{ \AA}$
 $b = 13,83 \text{ \AA}$
 $c = 28,75 \text{ \AA}$
 $\alpha = 103,4^\circ$
 $\beta = 94,0^\circ$
 $\gamma = 92,6^\circ$

Grupo espacial: P1

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 4

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $591 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,165 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-L-málico del Ejemplo 2 se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-L-málico del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 6 y/o por un patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de PXRD de la figura 6.

Aun en otra realización, la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-L-málico del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $3,2 \pm 0,2$, $6,3 \pm 0,2$, $9,5 \pm 0,2$, $12,8 \pm 0,2$, $14,3 \pm 0,2$, $18,0 \pm 0,2$, $22,4 \pm 0,2$ y $24,8 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Sal del ácido malónico

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido malónico.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido hemi-malónico que comprende 0,5 moles de ácido malónico por cada mol del Ejemplo 2.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido hemi-malónico monohidrato que comprende 1 mol de agua y 0,5 moles de ácido malónico por cada mol del Ejemplo 2.

En una realización, la sal del ácido hemi-malónico monohidrato del Ejemplo 2 se proporciona en una séptima forma cristalina denominada en el presente documento "Forma H-1" del Ejemplo 2, sal del ácido hemi-malónico. La Forma H-1 del Ejemplo 2, sal del ácido hemi-malónico comprende una molécula de agua y 0,5 de molécula de ácido malónico por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-malónico del Ejemplo 2 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 14,73 \text{ \AA}$
 $b = 6,27 \text{ \AA}$
 $c = 25,36 \text{ \AA}$
 $\alpha = 90,0^\circ$
 $\beta = 93,8^\circ$
 $\gamma = 90,0^\circ$

Grupo espacial: $P2_1$

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 2

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $584 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,137 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma H-1 se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-malónico del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 7 y/o por un

patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de PXRD de la figura 7.

Aun en otra realización, la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-malónico del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $3,5 \pm 0,2$, $7,1 \pm 0,2$, $12,3 \pm 0,2$, $13,5 \pm 0,2$, $15,5 \pm 0,2$, $17,6 \pm 0,2$, $19,1 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $20,6 \pm 0,2$, $21,7 \pm 0,2$ y $23,8 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Sal del ácido fosfórico

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido fosfórico.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como 1/3-hidrato de la sal del ácido fosfórico.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido fosfórico que comprende 0,67 moles de ácido fosfórico por cada mol del Ejemplo 2.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como 1/3-hidrato de la sal del ácido fosfórico que comprende 0,33 moles de agua y 0,67 moles de ácido fosfórico por cada mol del Ejemplo 2.

En una realización, 1/3-hidrato de la sal del ácido fosfórico del Ejemplo 2 se proporciona en una octava forma cristalina denominada en el presente documento "Forma H-33.1" del Ejemplo 2, sal del ácido fosfórico. La Forma H-33.1 del Ejemplo 2, sal del ácido fosfórico comprende 0,33 de molécula de agua y 0,67 de molécula de ácido fosfórico por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma H.33-1 se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 59,12 \text{ \AA}$
 $b = 6,89 \text{ \AA}$
 $c = 16,62 \text{ \AA}$
 $\alpha = 90,0^\circ$
 $\beta = 94,7^\circ$
 $\gamma = 90,0^\circ$

Grupo espacial: C2

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 3

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $563 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,181 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma H.33-1 se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma H-33.1 de la sal 1/3 del ácido fosfórico del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 8 y/o por un patrón de PXRD observado sustancialmente de acuerdo con el patrón de PXRD de la figura 8.

Aun en otra realización, la Forma H-33.1 de la sal 1/3 del ácido fosfórico del Ejemplo 2 se caracteriza por un patrón de PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ a una temperatura de aproximadamente 25°C) que comprende cuatro o más, preferiblemente, cinco o más valores 2θ seleccionados entre: $2,9 \pm 0,2$, $5,9 \pm 0,2$, $8,8 \pm 0,2$, $13,9 \pm 0,2$, $15,8 \pm 0,2$, $16,7 \pm 0,2$, $17,4 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $19,4 \pm 0,2$ y $20,4 \pm 0,2$, en la que el patrón de PXRD se mide a una temperatura de aproximadamente 25°C .

Sal del ácido R-(+)-mandélico

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido R-(+)-mandélico.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como un ácido R-(+)-mandélico monohidrato.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido R-(+)-mandélico que comprende 1 mol de ácido R-(+)-mandélico por cada mol del Ejemplo 2.

En una realización, el Ejemplo 2 se proporciona como una sal del ácido R-(+)-mandélico monohidrato que comprende 1 mol de agua y 1 mol de ácido R-(+)-mandélico por cada mol del Ejemplo 2.

En una realización, la sal del ácido R-(+)-mandélico monohidrato del Ejemplo 2 se proporciona en una novena forma cristalina denominada en el presente documento "Forma N-1" del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico. La Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico comprende una molécula de agua y una molécula de ácido R-(+)-mandélico por cada molécula del Ejemplo 2.

En una realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico se caracteriza por parámetros de celda unitaria aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de la celda:

$a = 6,31 \text{ \AA}$
 $b = 10,03 \text{ \AA}$
 $c = 21,79 \text{ \AA}$
 $\alpha = 98,2^\circ$
 $\beta = 91,3^\circ$
 $\gamma = 91,7^\circ$

Grupo espacial: P1

Moléculas del Ejemplo 2/unidad asimétrica: 2

Volumen/cantidad de moléculas en la celda unitaria = $683 \text{ \AA}^3$

Densidad (calculada) = $1,171 \text{ g/cm}^3$,

en la que los parámetros de celda unitaria de la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico se miden a una temperatura de aproximadamente -70°C .

En otra realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X (PXRD) simulado sustancialmente de acuerdo con el patrón de la figura 9.

Aun en otra realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico es sustancialmente pura.

Aun en otra realización, la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico contiene al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico.

Aun en otra realización, una Forma N-1 sustancialmente pura del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 10 %, preferiblemente, menos de aproximadamente el 5 % y, más preferiblemente, menos de aproximadamente el 2 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

Más preferiblemente, la Forma N-1 cristalina sustancialmente pura del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico tiene una homogeneidad de fase sustancialmente pura con menos de aproximadamente el 1 % del área pico total del patrón de PXRD medido de manera experimental que surge de picos que están ausentes en el patrón de PXRD simulado.

En otra realización, la forma cristalina del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico consiste básicamente en la Forma N-1. La forma cristalina de esta realización puede comprender al menos aproximadamente el 90 % en peso, preferiblemente, al menos aproximadamente el 95 % en peso y, más preferiblemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso, en función del peso de la forma cristalina, la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico.

Aun en otra realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico; y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aun en otra realización, una composición farmacéutica comprende la Forma N-1 sustancialmente pura del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico; y al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aun en otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la Forma N-1 del Ejemplo 2, sal del ácido R-(+)-mandélico se combina con al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable, a fin de proporcionar al menos una composición farmacéutica.

DEFINICIONES

Las características y ventajas de la invención pueden comprenderlas con más facilidad los expertos en la técnica mediante la lectura de la siguiente descripción detallada. Debe tenerse en cuenta que ciertas características de la invención que, a fin de que resulten más claras, se describen anteriormente y más adelante en el contexto de realizaciones separadas, también pueden combinarse para formar una única realización. Por otra parte, varias características de la invención que, con fines de brevedad, se describen en el contexto de una única realización,

también se pueden combinar, a fin de formar subcombinaciones de las mismas. Las realizaciones identificadas en el presente documento como a modo de ejemplo o preferidas pretenden ser ilustrativas y no limitantes.

A menos que, en el presente documento, se indique específicamente otra cosa, las referencias en singular también pueden incluir el plural. Por ejemplo, "un" y "una" pueden referirse a uno o más.

Como se usa en el presente documento, la expresión "compuestos y/o sales de los mismos" se refiere al menos a un compuesto, al menos una sal de los compuestos o una combinación de esto. Por ejemplo, los compuestos de la Fórmula (I) y/o las sales de los mismos incluyen un compuesto de la Fórmula (I); dos compuestos de la Fórmula (I); una sal de un compuesto de la Fórmula (I); un compuesto de la Fórmula (I) y una o más sales del compuesto de la Fórmula (I); y dos o más sales de un compuesto de la Fórmula (I).

A menos que se indique otra cosa, debe asumirse que cualquier átomo con valencias insatisfechas tiene suficientes átomos de hidrógeno como para satisfacer las valencias.

A continuación, se enumeran definiciones sobre varios términos usados para describir la presente invención. Estas definiciones se aplican a los términos como se usan en toda la memoria descriptiva (a menos que se limiten en casos específicos), ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

En toda la memoria descriptiva, el experto en la técnica puede elegir los grupos y sus sustituyentes, para proporcionar compuestos y restos estables.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen criterio médico, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin provocar excesiva toxicidad, irritación, reacción alérgica u otros problemas o complicaciones proporcionales con una relación riesgo/beneficio razonable.

Los compuestos de la Fórmula (I) pueden formar sales que también se encuentran dentro del alcance de la presente invención. A menos que se indique otra cosa, la referencia a un compuesto de la invención pretende incluir la referencia a una o más sales del mismo. El término "sal(es)" indica sales ácidas y/o básicas formadas con ácidos y bases orgánicas y/o inorgánicas. Además, el término "sal(es)" puede incluir zwitteriones (sales internas), por ejemplo, cuando un compuesto de la Fórmula (I) contiene un resto básico, tal como una amina o un anillo de piridina o imidazol, y un resto ácido, tal como un ácido carboxílico. Se prefieren sales farmacéuticamente aceptables (es decir, sales no tóxicas fisiológicamente aceptables), por ejemplo, sales de metal y de amina aceptables en las que el catión no contribuye considerablemente a la toxicidad ni a la actividad biológica de la sal. Sin embargo, otras sales también pueden ser útiles, por ejemplo, en las etapas de aislamiento o purificación que se pueden usar durante la preparación y, por ello, están contempladas dentro del alcance de la invención. Las sales de los compuestos de la Fórmula (I) se pueden formar, por ejemplo, mediante la reacción de un compuesto de la Fórmula (I) con una cantidad de ácido o base, tal como una cantidad equivalente, en un medio, tal como uno en el que la sal precipita o en un medio acuoso seguido de liofilización.

Las sales de adición de ácidos a modo de ejemplo incluyen acetatos (tales como los que se forman con ácido acético o ácido trihaloacético, por ejemplo, ácido trifluoroacético), adipatos, alginatos, ascorbatos, aspartatos, benzoatos, bencensulfonatos, bisulfatos, boratos, butiratos, citratos, canforatos, canforsulfonatos, ciclopentanpropionatos, digluconatos, dodecilsulfatos, etansulfonatos, fumaratos, glucoheptanoatos, glicerofosfatos, hemisulfatos, heptanoatos, hexanoatos, clorhidratos (formados con ácido clorhídrico), bromhidratos (formados con hidrogenobromuro), yodhidratos, maleatos (formados con ácido maleico), 2-hidroxietansulfonatos, lactatos, metanosulfonatos (formados con ácido metansulfónico), 2-naftalensulfonatos, nicotinatos, nitratos, oxalatos, pectinatos, persulfatos, 3-fenilpropionatos, fosfatos, picratos, pivalatos, propionatos, salicilatos, succinatos, sulfatos (tales como los que se forman con ácido sulfúrico), sulfonatos (tales como los que se mencionan en el presente documento), tartratos, tiocianatos, toluensulfonatos, tales como tosilatos, undecanoatos y similares.

Los ejemplos de sales básicas incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio, litio y potasio, sales de metales alcalinotérreos, tales como sales de calcio y magnesio; sales de bario, cinc y aluminio; sales con bases orgánicas (por ejemplo, aminas orgánicas), tales como trialkilaminas, tales como trietilamina, procaina, dibencilamina, N-bencil-β-fenetilamina, 1-efenamina, N,N'-dibenciletilen-diamina, dehidroabietilamina, N-etilpiperidina, bencilamina, dicitclohexilamina o aminas y sales farmacéuticamente aceptables similares con aminoácidos, tales como arginina, lisina y similares. Los grupos que contienen nitrógeno básico se pueden cuaternizar con agentes, tales como haluros de alquilo inferior (por ejemplo, cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo), sulfatos de dialquilo (por ejemplo, sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo), haluros de cadena larga (por ejemplo, cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo), haluros de aralkilo (por ejemplo, bromuros de bencilo y fenetilo), y otros. Las sales preferidas incluyen sales de monoclóhidrato, hidrogenosulfato, metanosulfonato, fosfato o nitrato.

Los compuestos de la Fórmula (I) pueden proporcionarse como sólidos amorfos o sólidos cristalinos. Puede emplearse la liofilización para proporcionar los compuestos de la Fórmula (I) en forma de un sólido.

Además, cabe destacar que los solvatos (por ejemplo, hidratos) de los compuestos de la Fórmula (I) también se encuentran dentro del alcance de la presente invención. El término "solvato" significa una asociación física de un compuesto de la Fórmula (I) con una o más moléculas disolventes, orgánicas o inorgánicas. Esta asociación física incluye la unión al hidrógeno. En ciertos casos, el solvato es capaz de aislarse, por ejemplo, cuando una o más moléculas disolventes se incorporan en la red cristalina del sólido cristalino. El "solvato" incluye tanto solvatos en fase de solución como solvatos que se pueden aislar. Los solvatos de ejemplo incluyen hidratos, etanolatos, metanolatos, isopropanolatos, solvatos de acetonitrilo y solvatos de acetato de etilo. Los métodos de solvatación se conocen en el estado de la técnica.

En el estado de la técnica, se conocen varias formas de profármacos, y estas se describen en:

- a) *The Practice of Medicinal Chemistry*, Camille G. Wermuth et al., capítulo 31, (Academic Press, 1996);
- b) *Design of Prodrugs*, editado por H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);
- c) *A Textbook of Drug Design and Development*, P. Krogsgaard-Larson y H. Bundgaard, eds. Capítulo 5, páginas 113–191 (Harwood Academic Publishers, 1991); y
- d) *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism*, Bernard Testa y Joachim M. Mayer, (Wiley-VCH, 2003).

Además, los compuestos de la Fórmula (I), después de su preparación, se pueden aislar y purificar para obtener una composición que contiene una cantidad en peso igual o superior al 99 % de un compuesto de la Fórmula (I) ("sustancialmente puro"), que después se usa o se formula como se describe en el presente documento. Los compuestos "sustancialmente puros" de la Fórmula (I) también se contemplan en el presente documento como parte de la presente invención.

Las expresiones "compuesto estable" y "estructura estable" se refieren a un compuesto que es lo suficientemente potente para sobrevivir al aislamiento en un grado útil de pureza de una mezcla de reacción, y a la formulación en un agente terapéutico eficaz. La presente invención pretende comprender compuestos estables.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende incluir una cantidad de un compuesto de la presente invención solo o en una cantidad de la combinación de compuestos reivindicados o una cantidad de un compuesto de la presente invención en combinación con otros ingredientes activos eficaces para actuar como agonista de S1P₁, o eficaz para el tratamiento o la prevención de condiciones patológicas autoinmunitarias y/o inflamatorias, tales como esclerosis múltiple y artritis reumatoide.

Como se usan en el presente documento, "tratar" o "tratamiento" incluyen el tratamiento de una patología en un mamífero, en particular, un ser humano, e incluyen: (a) evitar que ocurra la enfermedad en un mamífero, en particular, cuando el mamífero tiene predisposición a la enfermedad, pero aún no se le ha diagnosticado; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo y/o (c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad.

Los compuestos de la presente invención pretenden incluir todos los isótopos de átomos que se producen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferentes números másicos. A fin de brindar ejemplos generales y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio (D) y tritio (T). Los isótopos de carbono incluyen ¹³C y ¹⁴C. Por lo general, los compuestos de la invención etiquetados de manera isotópica se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los que se describen en el presente documento, usando un reactivo adecuado etiquetado de manera isotópica en lugar de un reactivo no etiquetado.

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) y/o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden administrarse por cualquier medio adecuado para la afección que se desea tratar, que puede depender de la necesidad de un tratamiento específico del sitio o de la cantidad del compuesto de la Fórmula (I) que debe administrarse.

Esta invención también incluye una clase de composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de la Fórmula (I) y/o sales del mismo farmacéuticamente aceptables; y uno o más vehículos y/o diluyentes y/o adyuvantes no tóxicos farmacéuticamente aceptables (denominados, en forma conjunta, materiales "portadores") y, si se desea, otros principios activos. Los compuestos de la Fórmula (I) pueden administrarse mediante cualquier vía adecuada, preferiblemente, en forma de una composición farmacéutica adaptada a dicha vía y en una dosis eficaz para el tratamiento previsto. Los compuestos y las composiciones de la presente invención pueden administrarse, por ejemplo, de manera oral, a través de la mucosa o de manera parenteral, que incluye la administración intravascular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular e intraesternal en formulaciones de unidad de dosis que contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, el portador farmacéutico puede contener una mezcla de manitol o lactosa, y celulosa microcristalina. La mezcla puede contener componentes adicionales, tales como un agente lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio, y un agente de desintegración, tal

como crospovidona. La mezcla del portador puede cargarse en una cápsula de gelatina o puede tener forma de comprimido. La composición farmacéutica puede administrarse en forma de dosificación oral o, por ejemplo, como una infusión.

- 5 Para la administración oral, la composición farmacéutica puede ser en forma, por ejemplo, de un comprimido, una cápsula, una cápsula líquida, una suspensión o un líquido. Preferiblemente, la composición farmacéutica presenta una forma de unidad de dosificación que contiene una cantidad particular del principio activo. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede proporcionarse como un comprimido o una cápsula que comprende una cantidad del principio activo en el intervalo de aproximadamente 0,1 a 1000 mg, preferiblemente, de aproximadamente 0,25 a 250 mg y, más preferiblemente, de aproximadamente 0,5 a 100 mg. Una dosis diaria adecuada para un ser humano u otro mamífero puede variar ampliamente, en función de la afección del paciente y de otros factores, pero puede determinarse usando métodos de rutina.

- 15 Todas las composiciones farmacéuticas que se contemplan en el presente documento pueden administrarse, por ejemplo, de manera oral a través de cualquier preparación oral aceptable y adecuada. Las preparaciones orales de ejemplo incluyen, entre otras, comprimidos, pastillas, caramelos, suspensiones acuosas y aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras y blandas, cápsulas líquidas, jarabes y elixires. Las composiciones farmacéuticas para la administración oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para fabricar composiciones farmacéuticas para la administración oral. A fin de proporcionar preparaciones farmacéuticas de sabor agradable, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede contener, al menos, un agente seleccionado de agentes edulcorantes, agentes saporíferos, agentes colorantes, emolientes, antioxidantes y agentes conservantes.

- 25 Por ejemplo, un comprimido puede prepararse mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un excipiente no tóxico farmacéuticamente aceptable, adecuado para la fabricación de comprimidos. Por ejemplo, los excipientes incluyen, entre otros, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio y fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, tales como celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, almidón de maíz y ácido alginico; agentes de fijación, tales como almidón, gelatina, polivinil-pirrolidona y acacia; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico y talco. Además, un comprimido puede estar no recubierto o recubierto mediante técnicas conocidas, a fin de disimular el sabor desagradable de un fármaco o de retrasar la desintegración y la absorción del principio activo en el tracto gastrointestinal y, de esa manera, prolongar los efectos del principio activo durante más tiempo. Los ejemplos de materiales hidrosolubles para disimular el sabor, incluyen, entre otros, hidroxipropil-metilcelulosa e hidroxipropil-celulosa. Los ejemplos de materiales retardantes incluyen, entre otros, etilcelulosa y acetato butirato de celulosa.

- Las cápsulas de gelatina dura pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal del mismo con al menos un diluyente sólido inerte, tal como carbonato de calcio, fosfato de calcio y caolín.

- 40 Las cápsulas de gelatina blanda pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un portador hidrosoluble, tal como polietilenglicol, y al menos un medio oleoso, tal como aceite de maní, parafina líquida y aceite de oliva.

- 45 Una suspensión acuosa puede prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un ejemplo adecuado para la fabricación de una solución acuosa. Los ejemplos de excipientes adecuados para la fabricación de una suspensión acuosa incluyen, entre otros, agentes de suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, alginato de sodio, ácido alginico, polivinil-pirrolidona, goma de tragacanto y goma acacia; agentes dispersantes o humectantes, tales como una fosfatido natural, por ejemplo, lecitina; productos de condensación de óxido de alquileno con ácidos grasos, tales como estearato de polioxietileno; productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, tales como heptadecaetilen-oxicetanol; productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, tales como monooleato de polioxietileno sorbitol; y productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de polioxietileno sorbitán. Una suspensión acuosa también puede contener, al menos, un conservante, tal como p-hidroxibenzoato de etilo y n-propilo; al menos, un agente colorante; al menos, un agente saporífero; y/o al menos, un agente edulcorante, incluidos, entre otros, sacarosa, sacarina y aspartamo.

- 60 Las suspensiones oleosas pueden prepararse, por ejemplo, suspendiendo, al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo y aceite de coco; o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Una suspensión oleosa también puede contener, al menos, un agente espesante, tal como cera de abejas, parafina sólida y alcohol de cetilo. A fin de obtener una suspensión oleosa de sabor agradable, puede añadirse, al menos, uno de los agentes edulcorantes descritos anteriormente y/o, al menos, un agente saporífero a la suspensión oleosa. Una suspensión oleosa también puede contener, al menos, un conservante, incluidos, entre otros, un antioxidante, tal como

hidroxianisol butilado y alfa-tocoferol.

Los polvos y gránulos dispersables pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un agente dispersante y/o humectante, al menos un agente de suspensión y/o al menos un conservante. Los agentes dispersantes, agentes humectantes y agentes de suspensión adecuados son como se describieron anteriormente. Los ejemplos de conservantes incluyen, entre otros, antioxidantes, por ejemplo, ácido ascórbico. Además, los polvos y gránulos dispersables también pueden contener, al menos, un excipiente, incluido, entre otros, agentes edulcorantes, agentes saporíferos y agentes colorantes.

Una emulsión de al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede prepararse, por ejemplo, como una emulsión de aceite en agua. La fase oleosa de las emulsiones que comprenden compuestos de la Fórmula (I) puede formarse con ingredientes conocidos en una forma conocida. Por ejemplo, la fase oleosa puede proveerse mediante un aceite vegetal, tal como aceite de oliva y aceite de cacahuete, un aceite mineral, tal como parafina líquida, y mezclas de estos. Si bien la fase puede comprender solo un emulsionante, puede comprender una mezcla de, al menos, un emulsionante con una grasa o con un aceite, o con ambos. Los agentes emulsionantes incluyen, entre otros, fosfátidos naturales, por ejemplo, lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de ésteres parciales con óxido de etileno, tales como monooleato de polioxietilén sorbitán. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante que actúa como estabilizador. También se prefiere incluir un aceite y una grasa. Juntos, el emulsionante con o sin el estabilizador constituye la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de ungüento emulsionante que forma la fase dispersa oleosa de las formulaciones cremosas. Una emulsión también puede contener un agente edulcorante, un agente saporífero, un agente conservante y/o un agente antioxidante. Los emulsionantes y los estabilizantes de emulsión adecuados para usar en una formulación de la presente invención incluyen Tween 60, Span 80, alcohol de cetosteárido, alcohol de miristilo, monoestearato de glicerilo, laurilsulfato de sodio, distearato de glicerilo solo o con una cera, u otros materiales conocidos en la técnica.

Los compuestos de la Fórmula (I) y/o al menos una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable, también se pueden administrar, por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea y/o intramuscular mediante cualquier forma inyectable adecuada y farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de formas inyectables incluyen, entre otros, soluciones acuosas estériles que comprenden disolventes y vehículos aceptables, tales como agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico; microemulsiones estériles de aceite en agua; y suspensiones acuosas u oleaginosas.

Las formulaciones para la administración parenteral pueden ser en forma de soluciones o suspensiones inyectables isotónicas estériles acuosas o no acuosas. Estas soluciones y suspensiones pueden prepararse de polvos o gránulos estériles usando uno o más de los vehículos o diluyentes mencionados para usar en formulaciones para la administración oral o usando otros agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión. Los compuestos pueden disolverse en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de maní, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro sódico, goma tragacanto y/o varios tampones. En la técnica farmacéutica, se conocen ampliamente otros adyuvantes y modos de administración. El principio activo también puede administrarse mediante inyección como una composición con vehículos adecuados, que incluyen solución salina, dextrosa o agua, o con ciclodextrina (es decir, Captisol), solubilización codisolvente (es decir, propilenglicol) o solubilización micelar (es decir, Tween 80).

La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente aceptable para la administración parenteral no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden usar, se encuentran agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, los aceites fijos estériles se emplean de manera convencional como un disolvente o medio de suspensión. Con este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo blando, incluidos los monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos, tales como el ácido oleico, pueden usarse en la preparación de inyectables.

Una microemulsión de aceite en agua estéril inyectable puede prepararse, por ejemplo, 1) disolviendo, al menos, un compuesto de la Fórmula (I) en una fase oleosa, tal como una mezcla de aceite de soja y lecitina; 2) combinando la Fórmula (I) que contiene la fase oleosa con una mezcla de agua y glicerol; y 3) procesando la combinación para formar una microemulsión.

Una suspensión acuosa u oleaginosa estéril puede prepararse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, una solución o suspensión acuosa estéril puede prepararse con un diluyente o disolvente no tóxico aceptable para la administración parenteral, tal como 1,3-butanodiol; y una suspensión oleaginosa estéril puede prepararse con un disolvente o medio de suspensión no tóxico estéril, tal como aceites fijos estériles, por ejemplo, monoglicéridos o diglicéridos sintéticos; y ácidos grasos, tales como ácidos oleico.

Los portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de esta invención incluyen, entre otros, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, sistemas autoemulsionantes de administración de fármacos (SEDDS), tales como succinato de d-alfa-tocoferol polietilenglicol 1000, tensioactivos usados en formas de dosificación farmacéutica, tales como Tweens, aceite de ricino polietoxilado, tal como tensioactivo CREMOPHOR (BASF), u otras matrices de administración polimérica, proteínas séricas, tales como albúmina de suero humana, sustancias tamponantes, tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, fosfato de hidrógeno disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, ceras, polímeros del bloque polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina. Las ciclodextrinas, tales como alfa, beta y gamma-ciclodextrina, o los derivados químicamente modificados, tales como hidroxialquilciclodextrinas, incluidas 2 y 3-hidroxipropilciclodextrinas, u otros derivados solubilizados, también pueden usarse de manera beneficiosa para mejorar la administración de compuestos de las fórmulas descritas en el presente documento.

Los compuestos farmacéuticamente activos de esta invención pueden procesarse de acuerdo con métodos farmacéuticos convencionales, a fin de producir agentes medicinales para la administración a pacientes, incluidos los seres humanos y otros mamíferos. Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, tampones, etc. Las pastillas y las píldoras pueden prepararse de manera adicional con recubrimientos entéricos. Dichas composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, edulcorantes, saporíferos y perfumantes.

Las cantidades de compuestos que se administran y el régimen de dosificación para tratar una afección con los compuestos y/o las composiciones de esta invención dependen de varios factores, que incluyen la edad, el peso, el sexo, la afección médica del sujeto, el tipo de enfermedad, la gravedad de la enfermedad, la vía y la frecuencia de administración y el compuesto particular que se emplea. Por ello, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse de rutina usando métodos estándares. Puede ser adecuada una dosis diaria de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal, preferiblemente, de entre aproximadamente 0,0025 y aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal y, con máxima preferencia, de entre aproximadamente 0,005 a 10 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria puede administrarse en una a cuatro dosis por día. Otras programaciones de dosificación incluyen una dosis por semana y una dosis por ciclo de dos días.

Los compuestos activos de esta invención se combinan de manera ordinaria con uno o más adyuvantes adecuados para la vía de administración indicada con fines terapéuticos. Si se administran de manera oral, los compuestos pueden mezclarse con lactosa, sacarosa, almidón en polvo, ésteres de celulosa de ácidos alcanoicos, alquilésteres de celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácido fosfórico y sulfúrico, gelatina, goma acacia, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y/o alcohol de polivinilo, y luego, se producen comprimidos y cápsulas para la administración conveniente. Dichas cápsulas o comprimidos pueden contener una formulación para la liberación controlada en una dispersión del compuesto activo en hidroxipropilmetilcelulosa.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, opcionalmente, un agente adicional seleccionado de cualquier portador, adyuvante y vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones alternativas de esta invención comprenden un compuesto de la Fórmula (I) que se describe en el presente documento y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

UTILIDAD

El sistema inmunitario humano ha evolucionado para defender al cuerpo de microorganismos, virus y parásitos que pueden causar infecciones, enfermedades o la muerte. Los mecanismos reguladores complejos garantizan que los diversos componentes celulares del sistema inmunitario se dirijan a las sustancias u organismos exógenos sin causar daños permanentes o significativos al individuo. Si bien actualmente no se comprenden totalmente los eventos de iniciación, en las condiciones patológicas autoinmunitarias el sistema inmunitario dirige la respuesta inflamatoria a los órganos diana en el individuo afectado. En general, las diferentes enfermedades autoinmunitarias se caracterizan por los órganos o tejidos diana predominantes o iniciales afectados, tales como la articulación en el caso de la artritis reumatoide, la glándula tiroidea en el caso de la tiroiditis de Hashimoto, el sistema nervioso central en el caso de la esclerosis múltiple, el páncreas en el caso de la diabetes tipo I, y el intestino en el caso de la enfermedad intestinal inflamatoria. Por ello, se ha observado que los agentes terapéuticos que actúan en el sistema inmunitario o en ciertos tipos de células del sistema inmunitario (tales como linfocitos B y linfocitos T) pueden ser de utilidad en más de una enfermedad autoinmunitaria.

Se sabe en la técnica, incluso en las referencias de bibliografía citadas en el presente documento, que los receptores de S1P son dianas de interés para una amplia variedad de aplicaciones terapéuticas, que incluyen enfermedades autoinmunitarias. Los receptores de S1P son dianas farmacológicas de interés porque los receptores

individuales son específicos de tejido y de respuesta. La especificidad de tejido de los receptores de S1P es importante, porque el desarrollo de un agonista o antagonista selectivo de un receptor localiza la respuesta celular a los tejidos que contienen ese receptor, lo cual limita los efectos secundarios no deseados. La especificidad de respuesta de los receptores de S1P también es importante, porque permite el desarrollo de agonistas o antagonistas que inician o suprimen ciertas respuestas celulares sin afectar otros procesos. Por lo tanto, los compuestos que actúan en algunos miembros de la familia de receptores de S1P son deseables, si bien tienen una actividad nula o disminuida en otros miembros de la familia, y se espera que proporcionen un efecto terapéutico con un mejor perfil de efectos secundarios (es decir, reducción o eliminación de los efectos terapéuticos no deseados).

Como se usa en el presente documento, el término "agonista", con respecto a S1P₁, se refiere a un agente que ejerce efectos farmacológicos, tales como una menor motilidad de los linfocitos T, un menor tráfico de los linfocitos T o un menor egreso de los linfocitos T de los tejidos linfáticos. (Rosen et al., *Trends in Immunology*, 28:102 (2007)).

Gracias a su actividad de S1P₁ como agonistas, los compuestos de la presente invención son agentes inmunorreguladores útiles para el tratamiento o la prevención de enfermedades inflamatorias autoinmunitarias o crónicas. Los compuestos de la presente invención son útiles para suprimir el sistema inmunitario en casos donde la inmunosupresión está en orden, tales como el rechazo de médula ósea, órganos o trasplantes, enfermedades inflamatorias autoinmunitarias y crónicas, que incluyen lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, diabetes melitus tipo I, enfermedad intestinal inflamatoria, cirrosis biliar, uveítis, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, penfigoide ampolloso, sarcoidosis, psoriasis, miositis autoinmunitaria, granulomatosis de Wegener, ictiosis, oftalmopatía de Graves y asma.

Más en particular, los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o un trastorno seleccionados del grupo que consiste en: trasplante de órganos o tejido, enfermedades del injerto contra el huésped causadas por el trasplante, síndromes autoinmunitarios que incluyen artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso cutáneo (lupus eritematoso discoide, lupus eritematoso subagudo) y nefritis lúpica, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I, uveítis, uveítis posterior, encefalomiелitis alérgica, glomerulonefritis, enfermedades autoinmunitarias posinfecciosas, que incluyen fiebre reumática y glomerulonefritis posinfecciosa, enfermedades cutáneas inflamatorias e hiperproliferativas, psoriasis, artritis psoriásica, dermatitis atópica, dermatitis por contacto, dermatitis eccematosa, dermatitis seborreica, liquen plano, pénfigo, penfigoide ampolloso, epidermolisis ampollosa, urticaria, angioedemas, vasculitis, que incluye vasculitis asociada a ANCA, arteritis de células gigantes, arteritis de Takayasu, poliangiitis microscópica, vasculitis del sistema nervioso central, síndrome de Churg-Strauss y vasculitis reumatoide, eritema, eosinofilia cutánea, acné, alopecia areata, queratoconjuntivitis, conjuntivitis primaveral, uveítis asociada a la enfermedad de Behcet, queratitis, queratitis herpética, queratocono, distrofia corneal epitelial, leucoma corneal, pénfigo ocular, úlcera de Mooren, escleritis, oftalmopatía de Graves, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, sarcoidosis, alergia al polen, enfermedad obstructiva reversible de las vías aéreas, asma bronquial, asma alérgica, asma intrínseca, asma extrínseca, asma por polvo, asma crónica o inveterada, asma tardía e hiperreactividad de las vías aéreas, bronquitis, úlceras gástricas, daño vascular causado por enfermedades isquémicas y trombosis, enfermedades intestinales isquémicas, enfermedades intestinales inflamatorias, enterocolitis necrotizante, lesiones intestinales asociadas a quemaduras térmicas, enfermedades celíacas, proctitis, gastroenteritis eosinofílica, mastocitosis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, migraña, rinitis, eczema, nefritis intersticial, síndrome de Goodpasture, síndrome hemolítico-urémico, nefropatía diabética, miositis múltiple, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Meniere, polineuritis, neuritis múltiple, mononeuritis, radiculopatía, hipertiroidismo, enfermedad de Basedow, aplasia pura de glóbulos rojos, anemia aplásica, anemia hipoplásica, púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica autoinmunitaria, agranulocitosis, anemia perniciosa, anemia megaloblástica, aneritroplasia, osteoporosis, sarcoidosis, fibrosis pulmonar, neumonía intersticial idiopática, dermatomiositis, vitiligo vulgar, ictiosis vulgar, sensibilidad fotoalérgica, linfoma cutáneo de linfocitos T, arterioesclerosis, aterosclerosis, síndrome aórtico, poliarteritis nudosa, miocardosis, esclerodermia, granuloma de Wegener, síndrome de Sjögren, adiposis, fascitis eosinofílica, lesiones gingivales, del periodonto y hueso alveolar, pérdida sustancial de los dientes, glomerulonefritis, alopecia de patrón masculino o alopecia senilis al prevenir la epilación o facilitar la germinación del cabello y/o promover la generación y el crecimiento del cabello, distrofia muscular; síndrome de Pyoderma y Sezary, enfermedad de Addison, lesiones de órganos por isquemia-revascularización que se produce después de la conservación, el trasplante o enfermedad isquémica, choque de endotoxinas, colitis pseudomembranosa, colitis causada por fármacos o radiación, insuficiencia renal aguda isquémica, insuficiencia renal crónica, toxinosis causada por oxígeno en los pulmones o fármacos, cáncer pulmonar, enfisema pulmonar, cataratas, siderosis, retinitis, pigmentosa, degeneración macular senil, cicatrización de la cámara posterior del ojo, quemadura corneal por álcali, dermatitis y eritema multiforme, dermatitis ampollar por IgA lineal y dermatitis por cemento, gingivitis, periodontitis, sepsis, pancreatitis, enfermedades causadas por la contaminación ambiental, envejecimiento, carcinogénesis, metástasis de carcinoma e hipobaropatía, enfermedad causada por la liberación de histamina o leucotrieno-C₄, enfermedad de Behcet, hepatitis autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, hepatectomía parcial, necrosis hepática aguda, necrosis causada por toxinas, hepatitis viral, choque o anoxia, hepatitis B, hepatitis no A/no B, cirrosis, cirrosis alcohólica, insuficiencia hepática, insuficiencia hepática fulminante, insuficiencia hepática de inicio tardío, insuficiencia hepática "aguda y crónica", aumento del efecto quimioterapéutico, infección por citomegalovirus, infección por HCMV, SIDA, cáncer, demencia senil, traumatismo, dolor neuropático, infección bacteriana crónica, trombocitopenia, nefropatía por IgA, glomerulonefritis mesangioproliferativa, enfermedad

relacionada con IgG4, espondilitis anquilosante y policondritis recidivante. La artritis idiopática juvenil incluye artritis idiopática juvenil cuya forma de inicio es la oligoartritis, artritis idiopática juvenil cuya forma de inicio es la poliartitis, artritis idiopática juvenil de inicio sistémico, artritis psoriásica juvenil y artritis idiopática juvenil relacionada con la entesitis.

5 Una realización proporciona los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en la terapia para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias. En otra realización, se proporciona el uso de los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades
10 autoinmunitarias y/o inflamatorias. En estas realizaciones se puede usar una cantidad terapéuticamente eficaz. Preferiblemente, en estas realizaciones, las enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias se seleccionan de esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad intestinal inflamatoria (que incluye enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), psoriasis, y como agente para evitar el rechazo de los órganos trasplantados.

15 En otra realización, se proporciona al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad vascular. Otra realización proporciona los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en la terapia para el tratamiento de enfermedades vasculares. En otra realización, se proporciona el uso de los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la fabricación de un medicamento para el
20 tratamiento de enfermedades vasculares. En estas realizaciones se puede usar una cantidad terapéuticamente eficaz. Preferiblemente, en estas realizaciones, la enfermedad vascular se selecciona de aterosclerosis y lesión por isquemia/revascularización.

En otra realización, se proporciona al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria intestinal. Otra realización proporciona los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en la terapia para el tratamiento de enfermedades intestinales inflamatorias. En otra realización, se proporciona el uso de los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades intestinales inflamatorias. En estas realizaciones se puede usar
25 una cantidad terapéuticamente eficaz. Preferiblemente, en estas realizaciones, la enfermedad intestinal inflamatoria se selecciona de enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis diverticular, enfermedad de Behçet y colitis indeterminada.

En otra realización, se proporciona al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del lupus. Otra realización proporciona los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en la terapia para el tratamiento del lupus. En otra realización, se proporciona el uso de los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del lupus. En estas realizaciones se puede usar una cantidad terapéuticamente eficaz. El lupus incluye lupus eritematoso sistémico,
35 lupus eritematoso cutáneo, lupus eritematoso discoide, lupus eritematoso subagudo y nefritis lúpica.

En otra realización, se proporciona al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple. Otra realización proporciona los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en la terapia para el tratamiento de la esclerosis múltiple. En otra realización, se proporciona el uso de los compuestos de la Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la esclerosis múltiple. En estas realizaciones se puede usar una cantidad terapéuticamente eficaz. Preferiblemente, en estas realizaciones, la esclerosis múltiple incluye esclerosis múltiple remitente recidivante, esclerosis múltiple progresiva primaria, esclerosis múltiple progresiva secundaria y esclerosis múltiple progresiva recidivante.
45

50 Cuando se tratan afecciones asociadas a S1P1, los compuestos de la Fórmula (I) pueden administrarse en solitario o combinados entre sí y/u otros agentes terapéuticos adecuados útiles para el tratamiento de esas afecciones. En consecuencia, "cantidad terapéuticamente eficaz" también incluye una cantidad de la combinación de los compuestos reivindicados, que es eficaz para actuar como agonista del receptor de S1P1. La combinación de los compuestos es, preferiblemente, una combinación sinérgica. La sinergia, como la describe, por ejemplo, Chou et al., *Adv. Enzyme Regul.*, 22:27-55 (1984), ocurre cuando el efecto de los compuestos administrados en combinación es mayor que el efecto aditivo de los compuestos cuando se administran individualmente como un solo agente. En general, el efecto sinérgico se demuestra con mayor claridad en concentraciones subóptimas de los compuestos. La sinergia se puede expresar en términos de menor citotoxicidad, mayor eficacia o algún otro efecto benéfico de la combinación en comparación con los componentes individuales.
55
60

Los ejemplos de estos otros agentes terapéuticos incluyen corticoesteroides o glucocorticoides, tales como dexametasona, metilprednisolona, prednisolona y prednisona; inhibidores de PDE4, tales como rolipram, cilomilast, roflumilast y oglemilast; fármacos antiinflamatorios supresores de citocina (CSAID) e inhibidores de cinasa p38, imidazo [1,2-A]quinoxalinas 4-sustituidas como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.200.750; anticuerpos o proteínas de fusión dirigidas a las moléculas de la superficie celular, tales como CD2, CD3, CD4, CD8,
65

- CD20, tal como RITUXAN®, CD25, CD30, CD40, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, CTLA, por ejemplo, abatacept (ORENCIA®), belatacept o sus ligandos, que incluyen CD154 (GP39 o CD40L); anticuerpos, proteínas de fusión o receptores solubles de citocinas o factores de crecimiento humanos, por ejemplo, TNF, tales como infliximab (REMICADE®), etanercept (Embrex), adalimumab (HUMIRA®), LT, IL-1, tales como anakinra (KINERET®);
- 5 (un antagonista del receptor de IL-1), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, tales como CNTO 328 (un anticuerpo anti-IL-6 quimérico), IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, IL-17, IL-21, IL-23, tales como Ustekinumab (un anticuerpo monoclonal anti-IL-12/23 humano), e interferones, tales como interferón beta 1a (AVONEX®, REBIF®), interferón beta 1b (BETASERON®);
- 10 antagonistas del receptor de integrina, tales como TYSABRI®; agentes poliméricos, tales como glatiramer acetato (COPAXONE®); sulfasalazina, mesalamina, hidroxicloroquina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), tales como salicilatos, que incluyen aspirina, salsalato y salicilato de magnesio, y no salicilatos, tales como ibuprofeno, naproxeno, meloxicam, celecoxib y rofecoxib; agentes antivirales, tales como abacavir; agentes antiproliferativos, tales como metotrexato, mercaptopurina, leflunomida, ciclosporina, micofenolato, FK506 (tacrolimo, PROGRAF®); fármacos citotóxicos, tales como azatioprina y ciclofosfamida; inhibidores de la translocación nuclear, tales como desoxiespergualina (DSG); productos que contienen oro, tales como auronofin;
- 15 penicilamina y rapamicina (sirolimus o RAPAMUNE®), o derivados de los mismos.

Los otros agentes terapéuticos anteriores, cuando se usan en combinación con los compuestos de la presente invención, se pueden emplear, por ejemplo, en las cantidades indicadas en el manual de referencia para médicos *Physicians' Desk Reference* (PDR) o según lo determine un experto en la técnica. Dichos otros agentes terapéuticos

20 se pueden administrar antes, durante o después de la administración de los compuestos de la invención.

Ejemplos

- La invención también se define en los siguientes Ejemplos. Debe comprenderse que los Ejemplos únicamente se
- 25 incluyen con fines ilustrativos. Mediante el análisis anterior y los Ejemplos, el experto en la técnica puede determinar las características esenciales de la invención y, sin apartarse del alcance de la misma, puede realizar varios cambios y modificaciones, a fin de adaptar la invención a varios usos y condiciones. Como resultado, la invención no se limita a los ejemplos ilustrativos indicados a continuación, sino que se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

30 Abreviaturas

Ac	acetilo
anhid.	anhidro
ac.	acuoso
Bn	bencilo
Bu	butilo
Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
VC	volúmenes de columna
DCM	diclorometano
DEA	dietilamina
DMA	N,N-dimetilacetamida
DMF	dimetilformamida
DMPU	1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidinona
DMSO	dimetilsulfóxido
EtOAc	acetato de etilo
Et	etilo
Et ₃ N	triethylamina
EtOH	etanol
H o H ₂	hidrógeno
h	hora(s)
hex	hexano
i	iso
HOAc	ácido acético
HPLC	cromatografía de líquidos de alta presión
LC	cromatografía de líquidos
LDA	diisopropilamida de litio
LiHMDS	bis(trimetilsilil)amida de litio
M	molar
mM	milimolar
Me	metilo
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
MHz	megahertzio
min	minuto(s)
M ⁺¹	(M+H) ⁺
MS	espectrometría de masa

n o N	normal
nM	nanomolar
NMP	N-metilpirrolidina
Pd/C	paladio sobre carbón
Pd ₂ (dba) ₃	tris-(dibencilidenacetona)dipaladio
Ph	fenilo
Pr	propilo
PSI	libras por pulgada cuadrada
R-BINAP	(R)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo
Tiempo de ret. o TR	tiempo de retención
sat.	saturado
S-BINAP	(S)-(-)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo
SFC	cromatografía de fluido supercrítico
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano

Condiciones de HPLC:

5 Condición C: Columna: YMC CombiScreen S5 50 x 4,6 mm (gradiente lineal de 0 a 100 % de disolvente B en 4 min, después 1-4 min de retención a 100 % de B; disolvente A = agua al 90 %/MeOH al 10 %/H₃PO₄ al 0,2 %; disolvente B = MeOH al 90 %/agua al 10 %/ H₃PO₄ al 0,2 %. Caudal: 4 ml/min; productos detectados a 220 nm.

10 Condición G: Columna: Waters Acquity BEH C18 2,1 x 50 mm 1,7 µm; gradiente lineal de 0-100 % de disolvente B en 3 min, después 0,75 min de retención a 100 % de B; caudal: 1,11 ml/min; disolvente A: 5:95 de acetonitrilo:agua con acetato de amonio 10 mM; disolvente B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura = 50 °C; productos detectados a 220 nm de longitud de onda.

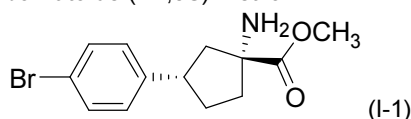
15 Condición H: Columna: Sunfire C18 (150 x 3,0 mm), 3,5 µm; gradiente lineal de 10 a 100 % de disolvente B en 25 min, después 5 min de retención a 100 % de B; caudal: 1 ml/min; tampón: TFA al 0,5 %, en agua con pH ajustado a 2,5 usando amoníaco diluido; disolvente A: tampón: acetonitrilo (95: 5); disolvente B: tampón: acetonitrilo (5:95); productos detectados a 220 nm.

20 Condición I: Columna: Waters Acquity SD BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 100 % de H₂O con TFA al 0,05 %; fase móvil B: 100 % de acetonitrilo con TFA al 0,05 %; temperatura: 50 °C; gradiente de 98:2 a 2:98 (A%:B%) en 1 min y retención 2:98 durante 0,5 min; flujo: 0,800 ml/min; productos detectados a 220 nm.

25 Condición J: Columna: Chromolith SpeedROD (4,6 x 50 mm); gradiente lineal de 0 a 100 % de disolvente B en 4 min, con 1 min de retención a 100 % de B; disolvente A: MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; disolvente B: MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %; caudal: 4 ml/min; productos detectados a 220 nm.

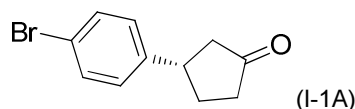
Intermedio 1

1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (1R,3S)-metilo



30

Intermedio 1A: (S)-3-(4-bromofenil)ciclopentanona



35 Una solución de ácido 4-bromofenilborónico (20 g, 100 mmol) en 1,4-dioxano (120 ml) en un matraz de 500 ml se purgó con nitrógeno durante 5 min. Se añadieron secuencialmente S-BINAP (0,992 g, 1,593 mmol) y tetrafluoroborato de bis(norbornadieno)rodio (I) (0,559 g, 1,494 mmol) a la solución en una presión positiva de nitrógeno. Después de 2 horas de agitación a temperatura ambiente, se añadió agua (20 ml) y después ciclopent-2-enona (8,06 ml, 100 mmol) y Et₃N (13,88 ml, 100 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante

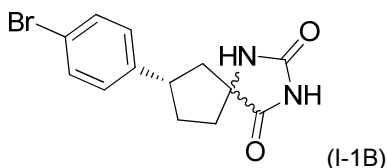
40 16 horas. Los sólidos oscuros resultantes se eliminaron por filtración, y el filtrado se vertió en 250 ml de acetato de etilo. La solución se lavó con agua dos veces, y la capa orgánica se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna ultrarrápida (dividida en dos lotes, cada uno se realizó en una columna de sílice de 330 g de acetato de etilo al 0 % - 25 % en hexano) para obtener 12,1 gramos de (S)-3-(4-bromofenil)ciclopentanona. La pureza de HPLC fue de >98 %, y el análisis de HPLC quiral indicó aproximadamente un 90 % de e.e. El material se

45 volvió a purificar en las condiciones de SFC quiral que se describen a continuación. Detalles experimentales:

Instrumento: Berger SFC MGIII; condiciones preparativas: Columna: ChiralPak AD-H 25 x 5 cm, 5 μ m; temperatura de columna: 40 °C; caudal: 200 ml/min; fase móvil: CO₂/MeOH = 80/20; longitud de onda del detector: 225 nm; volumen de inyección: 1,0 ml; preparación de la muestra: 12,1 g en; 210 ml de MeOH (conc.60 mg/ml); condiciones analíticas: Columna: ChiralPak AD 25 x 0,46 cm, 10 μ m; temperatura de columna: 40 °C; caudal: 2,0 min; fase móvil: CO₂/MeOH = 70/30; longitud de onda del detector: 220 nm; volumen de inyección: 5 μ l.

El enantiómero deseado (isómero principal) se aisló y se denominó "PK2" en función del orden de elución. Se determinó que la pureza enantiomérica del isómero aislado era mayor del 99,6 % en el % de área de SFC/UV a 220 nm. Después de la evaporación, se recuperaron 10,5 gramos del enantiómero deseado. Tiempo de retención de HPLC = LC/MS M⁺ = 239/241. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7,43-7,51 (2 H, m), 7,10-7,19 (2 H, m), 3,32-3,46 (1 H, m), 2,67 (1 H, dd, J=18,27, 7,48 Hz), 2,39-2,54 (2 H, m), 2,23-2,39 (2 H, m), 1,97 (1 H, ddd, J=12,98, 11,00, 9,02 Hz).

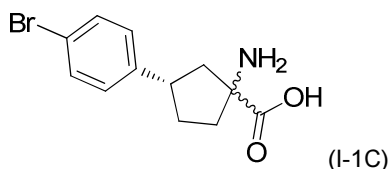
Intermedio 1B: (7S)-7-(4-bromofenil)-1,3-diazaspiro[4.4]nonan-2,4-diona



Se usó un total de 9,8 g de (S)-3-(4-bromofenil)ciclopentanona, dividida en 2 lotes, y cada uno contenía 4,9 g. Los dos lotes se procesaron en condiciones idénticas, como se describe a continuación.

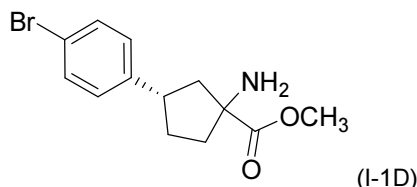
A una mezcla de (S)-3-(4-bromofenil)ciclopentanona (I-1A, 4,9 g, 20,49 mmol) y cianuro de potasio (1,935 g, 29,7 mmol) en EtOH (40 ml) y agua (20 ml) en un recipiente de vidrio a presión, se le añadió carbonato de amonio (4,92 g, 51,2 mmol). El recipiente de reacción se cerró herméticamente y se puso en un baño de aceite calentado a 80 °C durante 24 horas, que dio como resultado la formación de un sólido de color blanco. Después de enfriar el recipiente de reacción en un baño de hielo, el recipiente se abrió y se añadieron 30 ml de agua, lo que generó la formación de sólidos adicionales. Los sólidos se recogieron mediante filtración, se lavaron dos veces con 5 ml de agua y después se secaron a alto vacío. Los dos lotes se combinaron para obtener 13,9 g de (7S)-7-(4-bromofenil)-1,3-diazaspiro[4.4]nonan-2,4-diona, que se usaron para las reacciones posteriores sin purificación adicional. Tiempo de retención de HPLC = 0,82 min (condición G) LC/MS M⁺Na = 331, 2M⁺H = 619.

Intermedio 1C: Ácido (3S)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxílico



A (7S)-7-(4-bromofenil)-1,3-diazaspiro[4.4]nonan-2,4-diona (I-1B, 13,9 g, 45,0 mmol) en 1,4-dioxano (40 ml) en un matraz de fondo redondo, se le añadió NaOH acuoso (2 N, 100 ml, 200 mmol). La mezcla se calentó a 95 °C y se agitó durante 24 horas. Se añadió más cantidad de NaOH (25 ml, 50 mmol), y el calentamiento continuó durante dos días más. La solución se enfrió con un baño de hielo y se neutralizó con HCl 5 N aproximadamente a pH 7, lo que generó la formación de un precipitado de color blanco. Los sólidos se recogieron mediante filtración y se secaron a alto vacío durante 2 días para obtener 14 g de ácido (3S)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxílico en forma de un sólido de color blanco que se usó tal cual para la siguiente etapa sin purificación adicional. Tiempo de retención de HPLC = 0,64 min (condición G) LC/MS M⁺ = 284/ 286.

Intermedio 1D: 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (3S)-metilo

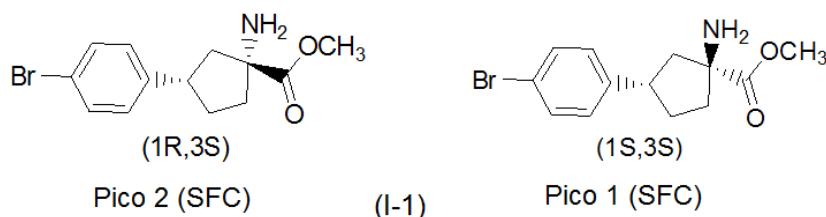


A una mezcla heterogénea de ácido (3S)-1-amino-3-(4-bromofenil) ciclopentancarboxílico (I-1C, 14 g, 49,3 mmol) en MeOH (250 ml), se le añadió gota a gota cloruro de tionilo (36,0 ml, 493 mmol) durante 20 minutos a temperatura ambiente mediante un embudo de adición (exotermia). La mezcla de reacción se puso en un baño de aceite y se

calentó a 70 °C durante 4 horas. El disolvente se retiró al vacío, y el residuo se disolvió en acetato de etilo (200 l) y se lavó dos veces con NaOH 1 N. Después, la capa orgánica se secó en Na₂SO₄ y se concentró para obtener 10,8 g de 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (3S)-metilo. Tiempo de retención de HPLC = 0,68 min (condición G); LC/MS M⁺ = 298/ 300.

5

Intermedio 1: 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (1R,3S)-metilo

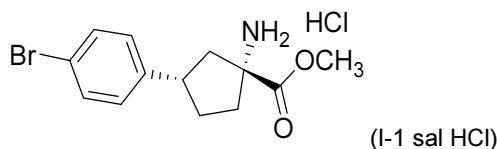


- 10 La mezcla de diastereómeros (I-1D, 9,5 g) se separó mediante SFC quiral. La asignación estereoquímica absoluta del Intermedio 1 y su diastereómero se ha descrito previamente (Wallace, G. A. et al. *J. Org. Chem.* 2009, 74, 4886-4889). Detalles experimentales: Instrumento: Preparativo: Thar SFC350; analítico: SFC analítica Berger; condiciones preparativas: Columna: Lux-Cellulose-4 25 x 3 cm, 5 µm; temperatura de columna: 35 °C; caudal: 200 ml/min; fase móvil: CO₂/(MeOH con DEA al 0,1 %) = 87/13; longitud de onda del detector: 220 nm; volumen de inyección: 0,6 ml;
- 15 preparación de la muestra: 9,5 g en 400 ml de MeOH (conc. 23,7 mg/ml). Condiciones analíticas: Columna: Lux-Cellulose-4 25 x 0,46 cm, 5 µm; temperatura de columna: 35 °C; caudal: 3 ml/min; fase móvil: CO₂/(MeOH con DEA al 0,1 %) = 85/15; longitud de onda del detector: 220 nm; volumen de inyección: 5 µl.

Intermedio 1: Pico 2: 4,06 g; tiempo de retención = 6,64 min en las condiciones de SFC quiral analítica anteriores. Pureza óptica: 98,2 %; LC/MS M⁺ = 298/300; pico 1: 3,96 g; tiempo de retención = 5,47 min en las condiciones de SFC quiral analítica anteriores. Pureza óptica: 99,4 %.

20

Preparación alternativa: Sal HCl del Intermedio 1



25

Una solución de ácido (3S)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxílico (10,2 g, 35,9 mmol) en MeOH (100 ml) se enfrió en un baño de hielo y después se añadió gota a gota SOCl₂ (15,72 ml, 215 mmol). Una vez que se completó la adición, la solución se sometió a reflujo durante 3 h, en cuyo momento se determinó que la reacción estaba completa, según el análisis por HPLC. La solución se concentró para retirar el metanol y obtener un sólido. El sólido se absorbió en 50 ml de H₂O al 3 % en EtOAc y se agitó bien durante 30 min. El sólido de color blanco formado se recogió mediante filtración. El sólido de color blanco húmedo se absorbió en 50 ml de H₂O al 4 % en 1,2-dimetoxietano y se calentó a 50 °C durante 3 h; después se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El sólido de color blanco resultante se recogió mediante filtración y se secó para obtener clorhidrato de 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (1R,3S)-metilo (3,5 g, 10,35 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 6,6 min (condición H) LC/MS M⁺ = 298/ 300. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,95 (s a, 3H) 7,50-7,53 (m, 2H), 7,35-7,37 (m, 2H), 3,81 (s, 3H) 3,17-3,28 (m, 1H), 2,57 (dd, J=14, 7 Hz, 1H), 2,0-2,28 (m, 5H).

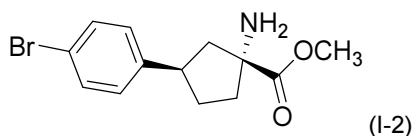
30

35

Intermedio 2

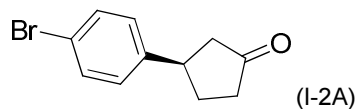
40

1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (1R,3R)-metilo



45

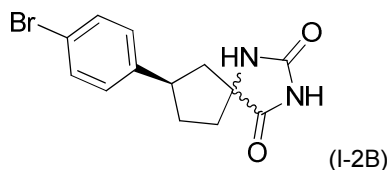
Intermedio 2A: (R)-3-(4-bromofenil)ciclopentanona



Una solución de ácido 4-bromofenilborónico (20 g, 100 mmol) en 1,4-dioxano (120 ml) se purgó con nitrógeno durante 10 min. Se añadieron secuencialmente (R)-BINAP (0,992 g, 1,593 mmol) y tetrafluoroborato de bis(norbornadieno)rodio (I) (0,559 g, 1,494 mmol), y la suspensión se sometió a ultrasonido durante 5 min. La mezcla se agitó durante 20 min. Se añadió agua (20 ml), y la mezcla de reacción se volvió homogénea. Después de 10 minutos, se añadió ciclopent-2-enona (8,06 ml, 100 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El análisis mediante HPLC y LCMS indicó que la reacción había continuado, pero había más material de inicio que producto. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite, y el Celite se lavó con acetato de etilo (100 ml). El filtrado se diluyó con más acetato de etilo (150 ml), se lavó con agua (2 x) y con salmuera, y se secó en sulfato de sodio anhidro. La mezcla de producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice usando una mezcla de acetato de etilo y hexano para obtener (R)-3-(4-bromofenil)ciclopentanona (6,09 g, 25,5 mmol) en forma de un sólido de color blanco. El producto fue 98 % puro, según el análisis por HPLC, con un tiempo de retención = 2,11 min. - (condición J). LC/MS $M^{+1} = 241$ 1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,57-7,39 (m, 2H), 7,22-7,06 (m, 2H), 3,39 (ddd, $J=10,9, 6,8, 4,1$ Hz, 1H), 2,67 (dd, $J=18,2, 7,4$ Hz, 1H), 2,57-2,38 (m, 2H), 2,38-2,21 (m, 2H), 1,99-1,85 (m, 1H).

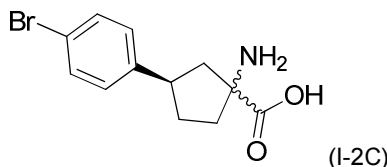
La HPLC quiral indicó que el compuesto era un 90-95 % enantioméricamente puro. El compuesto (6,03 g) se volvió a purificar mediante SFC quiral en las condiciones que se enumeran a continuación. El enantiómero deseado se aisló y se denominó "PK1" en función del orden de elución. Se determinó que la pureza enantiomérica del isómero aislado era mayor del 99,9 % en el % de área de SFC/UV a 220 nm. Se recuperaron 5,45 gramos del enantiómero deseado después de la concentración. Detalles experimentales: Instrumento: Berger SFC MGIII; condiciones preparativas; columna: ChiralPak AD-H 25 x 3 cm, 5 μm ; temperatura de columna: 40 °C; caudal: 180 ml/min; fase móvil: $CO_2/MeOH = 87/13$; longitud de onda del detector: 225 nm; volumen de inyección: 0,5 ml; preparación de la muestra: 6,03 g en 100 ml de MeOH (conc. 60 mg/ml). Condiciones analíticas: Columna: ChiralPak AD 25 x 0,46 cm, 10 μm ; temperatura de columna: 40 °C; caudal: 2,0 min; fase móvil: $CO_2/MeOH = 70/30$; longitud de onda del detector: 220 nm; volumen de inyección: 5 μl .

Intermedio 2B: (7R)-7-(4-bromofenil)-1,3-diazaspiro[4.4]nonan-2,4-diona



A una mezcla de (R)-3-(4-bromofenil)ciclopentanona (I-2A, 5,4 g, 22,58 mmol) y cianuro de potasio (2,132 g, 32,7 mmol) en EtOH (40 ml) y agua (20 ml) en un recipiente de vidrio a presión, se le añadió carbonato de amonio (5,42 g, 56,5 mmol). El recipiente de reacción se cerró herméticamente y se puso en un baño de aceite calentado a 80 °C durante 20 horas. Se formó una gran cantidad de sólido de color blanco fluido en la solución de color amarillo pálido. El análisis mediante LCMS indicó restos del material de inicio, por lo que la reacción continuó durante 24 horas más. Debido a que la conversión estaba incompleta, se aumentó la temperatura del baño de aceite a 120 °C. El sólido de color blanco se disolvió por completo a una mayor temperatura. Después de 3 horas, la solución se enfrió a temperatura ambiente. La solución se siguió enfriando en un baño de hielo, se añadió agua (30 ml), y el sólido de color blanco resultante se recogió mediante filtración, se lavó con agua, se secó al aire y después se colocó a alto vacío para obtener el compuesto diana (6,9 g, 22,32 mmol) que se usó para la reacción posterior sin purificación adicional. Tiempo de retención de HPLC = 0,81 min (condición G); LC/MS $M^H = 309/311$; $2M^{+H} = 619$.

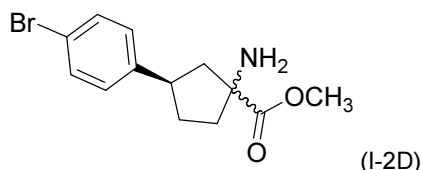
Intermedio 2C: Ácido (3R)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxílico



Una solución de (7R)-7-(4-bromofenil)-1,3-diazaspiro[4.4]nonan-2,4-diona (I-2B, 6,80 g, 22 mmol) en dioxano (20 ml) y NaOH (2 N acuoso) (120 ml, 240 mmol) se calentó en un baño de aceite a 95 °C. La solución resultante de color amarillo pálido transparente se agitó durante el fin de semana. La solución se enfrió en un baño de hielo y se neutralizó aproximadamente a pH 7 con HCl 6 N, lo que generó la formación de un precipitado. Los sólidos se recolectaron y se secaron al aire durante la noche. El sólido de color blanco se suspendió en etanol caliente (~100 ml) y se volvió a recolectar mediante filtración, y el sólido se secó al aire y después se colocó a alto vacío. (5,8 g, 20,41 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 0,64 min (condición G); LC/MS $M^{+1} = 284/286$. 1H RMN (500 MHz, metanol- d_4) δ 7,52-7,38 (m, 2H), 7,31-7,17 (m, 2H), 3,55-3,40 (m, 1H), 2,68 (dd, $J=13,3, 6,7$ Hz, 1H de un solo diastereómero), 2,58-2,39 (m, 1H), 2,26-2,15 (m, 1H), 2,10-1,98 (m, 1H), 1,98-1,81 (m, 1H), 1,70 (dd, $J=13,2$,

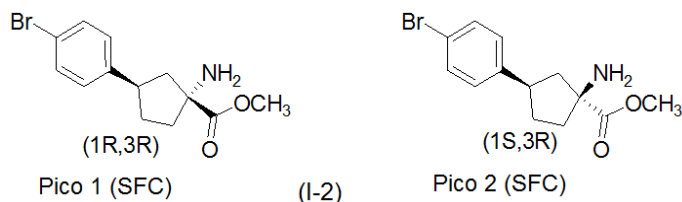
11,8 Hz, 1H de un solo diastereómero).

Intermedio 2D: 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (3R)-metilo



En un matraz de fondo redondo de 500 ml que contenía una barra agitadora, se suspendió ácido (3R)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxílico (I-2C, 5,4 g, 19,00 mmol) en metanol (100 ml) para obtener una suspensión de color blanco. Se cargó cloruro de tionilo (13,87 ml, 190 mmol) en un embudo de goteo, y el reactivo se añadió gota a gota a una velocidad tal que evitase que la mezcla alcanzara la temperatura de reflujo. Una vez que se completó la adición, la solución lechosa de color amarillo pálido se puso en un baño de aceite a 70 °C y se equipó con un condensador de reflujo enfriado con aire. La solución se calentó durante varias horas y después se enfrió a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con NaOH 1 N (ac.) y con agua y después se secó en MgSO₄ antes de filtrarlo y concentrarlo. El sólido amarillo resultante se suspendió en acetato de etilo caliente, se sometió a ultrasonido y después se filtró. El sólido se secó al aire y se colocó al vacío, y el filtrado se evaporó para obtener el sólido 1: sólido de color blanco, 4,28 g; el análisis por LCMS mostró >98 % AP. El filtrado se evaporó para obtener un sólido amarillo (1,89 g). El sólido del filtrado se suspendió en una cantidad mínima de acetato de etilo caliente, se sometió a ultrasonido, después se enfrió (baño de hielo) y se filtró frío. El sólido se secó al aire y se colocó al vacío para obtener el sólido 2: 1,44 g de sólido de color blanco. Sólidos combinados (5,7 g).

Intermedio 2: 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (1R,3R)-metilo



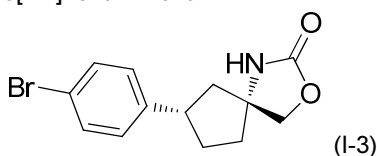
Los sólidos combinados de 1-amino-3-(4-bromofenil) ciclopentancarboxilato de (3R)-metilo (I-2D, 4 g) se separaron mediante separación de SFC quiral de los diastereómeros. La asignación estereoquímica absoluta del Intermedio 2 y su diastereómero se ha descrito previamente (Wallace, G. A. et al. *J. Organic Chem.* 2009, 74, 4886-4889). Detalles experimentales: Instrumento: Preparativo: Thar SFC350; analítico: MDS analítico Thar. Condiciones preparativas: Columna: ChiralPak AD-H 25 x 5 cm, 5 µm; temperatura de columna: 35 °C; caudal: 300 ml/min; fase móvil: CO₂/(MeOH con DEA al 0,1 %) = 82/18; longitud de onda del detector: 230 nm; volumen de inyección: 0,4-0,5 ml; preparación de la muestra: 4 g en 120 ml de MeOH (conc. 33 mg/ml). Condiciones analíticas: Columna: ChiralPak AD-H 25 x 0,46 cm, 5 µm; temperatura de la columna: 35 °C; caudal: 3 ml/min; fase móvil: CO₂/(MeOH con DEA al 0,1 %) = 80/20; longitud de onda del detector: 222 nm; volumen de inyección: 5 µl.

Intermedio 2 (pico 1): 1,56 g (99,3 % de pureza óptica a 222 nm); tiempo de retención = 7,18 min en SFC quiral analítica. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ 7,45-7,39 (m, 2H), 7,23-7,17 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,40-3,48 (m, 1H), 2,40 (ddd, J=13,0, 8,9, 3,6 Hz, 1H), 2,28-2,21 (m, 1H), 2,18 (dd, J=13,0, 11,7 Hz, 1H), 2,04 (dd, J=13,0, 7,2 Hz, 1H), 1,88-1,79 (m, 1H), 1,79-1,70 (m, 1H).

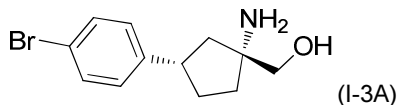
Pico 2: 1,8 g (97,2 % de pureza óptica a 222 nm). Tiempo de retención = 7,71 min en SFC quiral analítica. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ 7,45-7,38 (m, 2H), 7,26-7,20 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,28-3,20 (m, 1H), 2,66-2,57 (m, 1H), 2,25 (ddd, J=12,8, 11,0, 7,2 Hz, 1H), 2,10 (dt, J=12,2, 6,8 Hz, 1H), 2,03-1,93 (m, 1H), 1,84 (ddd, J=13,0, 7,8, 2,2 Hz, 1H), 1,65 (dd, J=13,3, 11,1 Hz, 1H).

Intermedio 3

(5R,7S)-7-(4-bromofenil)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona



Intermedio 3A: ((1R,3S)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentil)metanol



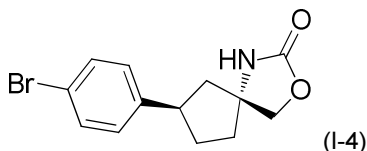
- 5 A una mezcla de 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (1R,3S)-metilo, HCl (I-1 HCl, 15 g, 44,8 mmol) en MeOH (100 ml) a 0 °C, se le añadió en porciones borohidruro de sodio (4 g, 106 mmol). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, y se añadió borohidruro de sodio en porciones hasta que se determinó que la reacción se había completado, según el análisis de HPLC. Se añadió agua para inactivar la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con NaCl saturado. La capa orgánica se volvió a extraer varias veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron con MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto (11 g) se recuperó después de la concentración. Tiempo de retención de HPLC = 0,65 min (condición G); LC/MS M⁺ = 272: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,51-7,40 (m, 2H), 7,27 (d, J=8,4 Hz, 2H), 3,32-3,20 (m, 2H), 3,09-2,92 (m, 1H), 2,11 (dd, J=12,9, 8,7 Hz, 1H), 1,98-1,87 (m, 1H), 1,80 (cd, J=11,1, 7,9 Hz, 1H), 1,69-1,58 (m, 1H), 1,48 (ddd, J=12,4, 7,9, 2,2 Hz, 1H), 1,32 (dd, J=12,8, 10,1 Hz, 1H).

15 Intermedio 3: (5R,7S)-7-(4-bromofenil)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona

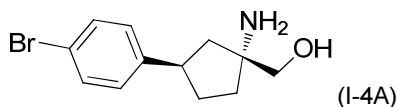
- A una mezcla de ((1R,3S)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentil)metanol (11 g, 40,7 mmol) y piridina (I-3A, 3,29 ml, 40,7 mmol) en dioxano (300 ml), se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (19,81 g, 122 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl 1 M, salmuera y NaHCO₃ saturado. La mezcla se volvió a extraer varias veces. La capa orgánica se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró para obtener 10,5 g del producto deseado en forma de un sólido de color blanquecino. Tiempo de retención de HPLC = 0,87 min (condición G). LC/MS M⁺ = 297,9; ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,45 (d, J=8,6 Hz, 2H), 7,12 (d, J=8,4 Hz, 2H), 6,42 (s, 1H), 4,41-4,21 (m, 2H), 3,17-2,91 (m, 1H), 2,34 (dd, J=13,3, 7,4 Hz, 1H), 2,23-2,11 (m, 2H), 2,01-1,90 (m, 2H), 1,88-1,74 (m, 1H).

Intermedio 4

(5R,7R)-7-(4-bromofenil)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona



Intermedio 4A: ((1R,3R)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentil)metanol



- 35 Se disolvió 1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentancarboxilato de (1R,3R)-metilo (I-2, 3,88 g, 13,01 mmol) en MeOH (65,1 ml), y se añadió en porciones borohidruro de sodio (1,477 g, 39,0 mmol). Se añadió en porciones más borohidruro de sodio (0,5 equiv. cada 1 h) hasta que se determinó que la reacción se había completado, según el análisis de HPLC. Se descubrió que la reacción estaba completa después de 2 horas. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se diluyó con acetato de etilo. La capa acuosa se volvió a extraer tres veces con EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con NaCl saturado, se secaron en MgSO₄, se filtraron y se concentraron para obtener ((1R,3R)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentil)metanol (3,19 g, 11,81 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 0,68 min; LC/MS M⁺ = 272: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,42 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,13 (d, J=8,4 Hz, 2H), 3,49 (s, 2H), 3,32-3,41 (m, 1H), 2,19-2,25 (m, 1H), 1,98-2,07 (m, 1H), 1,90-1,95 (m, 1H), 1,66-1,74 (m, 2H), 1,52-1,60 (m, 1H).

Intermedio 4: (5R,7R)-7-(4-bromofenil)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona

- 50 Se disolvió ((1R,3R)-1-amino-3-(4-bromofenil)ciclopentil)metanol (I-4A, 3,19 g, 11,81 mmol) en THF (59,0 ml). Se añadieron en porciones piridina (0,955 ml, 11,81 mmol) y 1,1'-carbonildiimidazol (5,74 g, 35,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h y después se sometió a LCMS. Una vez que se completó la reacción, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl 1 M. La capa acuosa se volvió a extraer dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con NaCl saturado, se secaron en MgSO₄, se filtraron y se concentraron para obtener (5R,7R)-7-(4-bromofenil)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (2,5 g, 8,44 mmol) después de la cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 24 g; eluyente: hexano 2 VC seguido de un gradiente a 100 % de EtOAc en

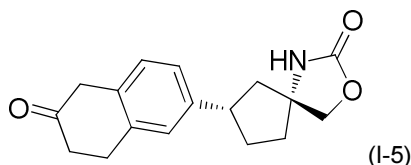
15 VC)

Tiempo de retención de HPLC = 0,91 min; LC/MS M^{+1} = 298: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,46 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,09 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 5,72- 5,81 (m, 1H), 4,35 (dd, $J=13$ Hz, 8 Hz, 2H), 3,19-3,24 (m, 1H), 2,38-2,44 (m, 1H), 2,15-2,26 (m, 1H), 2,11-2,14 (m, 1H), 1,99-2,05 (m, 1H), 1,79-1,85 (m, 1H), 1,65-1,72 (m, 1H).

5

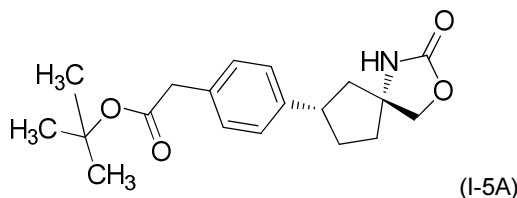
Intermedio 5

(5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona



10

Intermedio 5A: 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il) fenil)acetato de terc-butilo

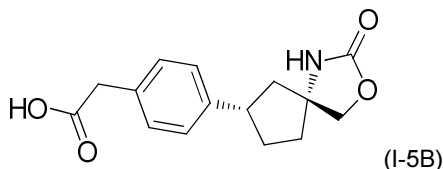


15

A una mezcla de (5R,7S)-7-(4-bromofenil)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (I-3, 1 g, 3,38 mmol) en dioxano (10 ml) a temperatura ambiente, se añadió le bis(trimetilsilil)amida de litio (3,71 ml, 3,71 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos, y después se añadieron 1,2,3,4,5-pentafenil-1'-(di-t-butilfosfino)ferroceno (0,121 g, 0,169 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,155 g, 0,169 mmol) y cloruro de (2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)cinc(II) (8,10 ml, 4,05 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 2 horas, después se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl 1 M. La capa orgánica se secó en MgSO_4 , se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (40 g) usando un gradiente de EtOAc/hexano (EtOAc al 0-100 % en 20 minutos) para obtener 950 mg de trifluorometanosulfonato de 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)fenil)acetato de terc-butilo. Tiempo de retención de HPLC = 0,93 min (condición G); LC/MS M^{+1} = 332.

25

Intermedio 5B: Ácido 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)fenil)acético



30

A una mezcla de 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il) fenil)acetato de terc-butilo (I-5A, 1 g, 3,02 mmol) en DCM (20 ml), se le añadió TFA (10 ml). Después de 2 h, la solución se concentró al vacío y se usó tal cual para la etapa posterior sin purificación adicional. Tiempo de retención de HPLC = 0,65 min (condición G); LC/MS M^{+1} = 276.

35

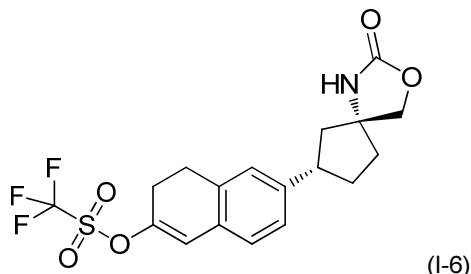
Intermedio 5: (5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona

A una mezcla de ácido 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)fenil) acético (I-5B, 800 mg, 2,91 mmol) en DCM (20 ml), se le añadió cloruro de oxalilo (1 ml, 11,42 mmol) y unas pocas gotas de DMF. Después de una hora, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se volvió a disolver en DCM (20 ml) en un recipiente de vidrio a presión. Se añadió cloruro de aluminio granular (1550 mg, 11,62 mmol), y la mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. Se hizo burbujear etileno a través de la solución durante 5 minutos, y después el recipiente de reacción se cerró herméticamente. La mezcla de reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se vertió en hielo, se diluyó con diclorometano y se lavó con HCl 1 M. La capa orgánica se secó en MgSO_4 , se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (80 g) usando un gradiente de MeOH/DCM (0-10 % de MeOH en 13 VC). Las fracciones que contenían el producto se recolectaron y se secaron al vacío para obtener 770 mg de (5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona. Tiempo de retención de HPLC = 0,74 min (condición G); LC/MS M^{+1} = 286: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,20-7,00 (m, 3H), 5,49 (s, 1H), 4,45-4,25 (m, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,08 (t, $J=6,8$ Hz, 3H), 2,58 (t, $J=6,7$ Hz, 2H), 2,38 (dd, $J=13,2$, 7,3 Hz, 1H), 2,27-2,11 (m, 2H), 2,05-1,92 (m, 2H), 1,92-1,74 (m, 1H).

45

Intermedio 6

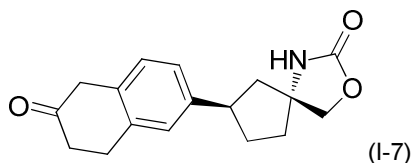
Trifluorometanosulfonato de 6-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)-3,4-dihidronaftalen-2-ilo



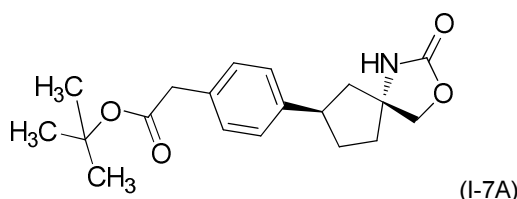
A una mezcla de (5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (I-5, 340 mg, 1,192 mmol) y DMPU (0,431 ml, 3,57 mmol) en THF (10 ml) a -78°C , se le añadió LDA (1,456 ml, 2,62 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y después se añadió 1,1,1-trifluoro-N-fenil-N-(trifluorometil)sulfonilmetansulfonamida (639 mg, 1,787 mmol) en THF (10 ml). La mezcla de reacción se calentó a 0°C . Después de 1 h, la reacción se inactivó con agua. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con NaCl acuoso saturado. La capa orgánica se secó en MgSO_4 , se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (40 g) usando un gradiente de EtOAc/hexano (EtOAc al 0-100 % en 20 minutos) para obtener 400 mg de trifluorometanosulfonato de 6-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)-3,4-dihidronaftalen-2-ilo. Tiempo de retención de HPLC = 1,01 min (condición G); LC/MS $M^{+1} = 418$. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,17-6,95 (m, 3H), 6,74 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 4,48-4,20 (m, 2H), 3,17-2,95 (m, 3H), 2,81-2,60 (m, 2H), 2,33 (dd, $J=13,3, 7,2$ Hz, 1H), 2,24-2,08 (m, 2H), 2,05-1,74 (m, 3H).

Intermedio 7

(5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona



Intermedio 7A: 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)fenil)acetato de terc-butilo



A una solución de (5R,7R)-7-(4-bromofenil)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (Intermedio 4, 2,1 g, 7,09 mmol) en THF (25,3 ml) a temperatura ambiente, se le añadió LiHMDS (7,80 ml, 7,80 mmol). La solución se agitó durante 15 min. Después, se añadieron secuencialmente $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,195 g, 0,213 mmol), 1,2,3,4,5-pentafenil-1'-(di-*t*-butilfosfino)ferroceno (0,151 g, 0,213 mmol) y bromuro de (2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)cinc(II), tetrahidrofurano (7,07 g, 21,27 mmol). La suspensión se agitó a 24°C durante 2 h. El análisis de LCMS mostró que el material de inicio se había consumido por completo. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl 1 M. La capa orgánica se secó en MgSO_4 , se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (40 g) usando 100:0 a 0:100 de hexano:acetona en 25 VC. Se aisló 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)fenil)acetato de terc-butilo (2,35 g, 7,09 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 0,95 min (condición I); LC/MS $M^{+1} = 332$: ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,27-7,21 (m, 2H), 7,21-7,15 (m, 2H), 5,11 (s a, 1H), 4,40-4,26 (m, 2H), 3,53 (s, 2H), 3,22-3,01 (m, 1H), 2,36 (dd, $J=13,2, 7,3$ Hz, 1H), 2,25-2,10 (m, 2H), 2,04-1,92 (m, 2H), 1,91-1,76 (m, 1H), 1,47 (s, 9H).

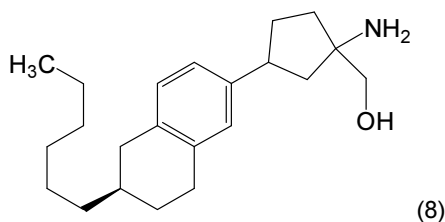
Intermedio 7: (5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona

Se disolvió 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)fenil)acetato de terc-butilo líquido de color pardo (I-7A, 2,35 g, 7,09 mmol) en DCM (60 ml) y después se añadió ácido trifluoroacético (20 ml, 260 mmol). La mezcla de

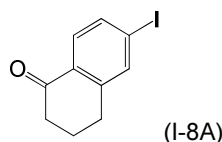
reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, en cuyo momento el disolvente se retiró a presión reducida. El material resultante se diluyó en DCM (60 ml), se purificó mediante la extracción de ácido/base y se colocó al vacío durante 1 h. El ácido 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)fenil)acético gomoso de color pardo resultante (1,952 g, 7,09 mmol) se disolvió en DCM (60 ml), y después se añadieron cloruro de oxalilo (1,862 ml, 21,27 mmol) y DMF (0,027 ml, 0,355 mmol). La solución resultante se agitó hasta que la evolución de gas cesó (alrededor de 30 min) a temperatura ambiente. El análisis por LCMS de una alícuota inactivada con MeOH mostró el consumo completo del ácido (TR = 0,65 min, condición I) y la aparición del supuesto éster metílico debido a la inactivación con metanol (TR = 0,77 min, condición I) como el único producto. El disolvente se retiró a presión reducida, y el producto se colocó en vacío. La goma de color pardo se transfirió a un tubo sellado con DCM (60 ml) (no se disolvió por completo; se obtuvo una suspensión de color pardo). La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C y después se añadió cloruro de aluminio granular (2,84 g, 21,27 mmol). Se hizo burbujear etileno a través de la solución durante 7 min, y el tubo se cerró herméticamente. Se formó un precipitado, y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 15 min y después se llevó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y después se despresurizó. El análisis de LCMS mostró la desaparición del material de inicio y la aparición del producto de tetralona. La mezcla de reacción se vertió en hielo, se diluyó con DCM y se agitó hasta que se derretió el hielo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró a presión reducida. La purificación en gel de sílice produjo (5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (1,05 g, 3,68 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 0,74 min (condición I); LC/MS M^{+1} = 286; 1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,23-7,11 (m, 3H), 5,68 (s, 1H), 4,45-4,30 (m, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,31-3,18 (m, 1H), 3,08 (t, J=6,8 Hz, 2H), 2,58 (t, J=6,7 Hz, 2H), 2,42-2,39 (m, 1H), 2,32-2,15 (m, 2H), 2,09-1,99 (m, 1H), 1,91-1,83 (m, 1H), 1,82-1,72 (m, 1H).

Intermedio 8

(1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol

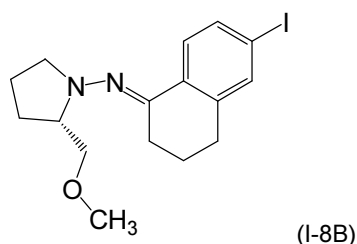


Intermedio 8A: 6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona



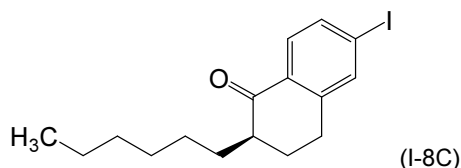
A una solución transparente agitada de 6-amino-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona (15 g, 93 mmol) en ácido acético (150 ml) y agua (150 ml), se le añadió gota a gota ácido sulfúrico (5,5 ml, 101 mmol) a 0 °C. después, se añadió gota a gota una solución de nitrito de sodio (12,90 g, 187 mmol) en agua (100 ml) durante 40 min a la misma temperatura. La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 min antes de añadirla lentamente a una solución agitada de yoduro de sodio (55,8 g, 372 mmol) en agua (600 ml) durante 2 h a 0 °C. La suspensión de color pardo resultante se agitó a 0 °C durante 30 min y a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (400 ml, 2 x 100 ml). Los extractos de acetato de etilo combinados se lavaron con agua (60 ml) y solución acuosa saturada de $Na_2S_2O_3$ hasta que el color marrón desapareció, y solución acuosa saturada de K_3PO_4 (60 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 330 g, gradiente de elución de acetato de etilo del 5 al 15 % en hexanos) produjo 6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona (17,3 g, 63,6 mmol) en forma de un sólido. LC/MS M^{+1} = 273.

Intermedio 8B: (S)-N-(6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-iliden)-2-(metoximetil)pirrolidin-1-amina



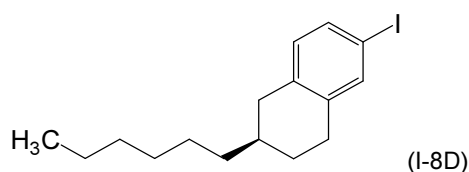
A una mezcla agitada de 6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona (I-8A, 20,90 g, 77 mmol), ácido p-toluensulfónico monohidrato (0,584 g, 3,07 mmol) y ciclohexano (40 ml), se le añadió gota a gota (S)-2-(metoximetil)pirrolidin-1-amina (10 g, 77 mmol) a temperatura ambiente en nitrógeno. La mezcla se calentó con eliminación azeotrópica de agua durante 5 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y se mezcló con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (15 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 ml). Las soluciones orgánicas combinadas se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 330 g, gradiente de elución de EtOAc del 0 % al 20 % en hexanos) produjo (S)-N-(6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-iliden)-2-(metoximetil)pirrolidin-1-amina (29,1 g, 76 mmol) como un líquido amarillo. LC/MS $M^{+1} = 385$.

Intermedio 8C: (R)-2-hexil-6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona



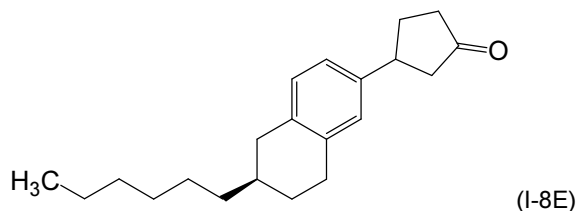
A una solución agitada de diisopropilamina (19,43 ml, 136 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (250 ml), se le añadió gota a gota una solución de butil litio (2,5 M en hexanos, 39,4 ml, 98 mmol) a 0 °C en nitrógeno. La solución resultante se agitó a la misma temperatura durante 15 min antes de que se añadiera por goteo una solución de (S)-N-(6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-iliden)-2-(metoximetil)pirrolidin-1-amina (I-8B, 29,1 g, 76 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (100 ml). La solución de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h. Se añadió gota a gota una solución de 1-yodohexano (22,35 ml, 151 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) a -78 °C, y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 h. La temperatura se elevó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La mezcla de reacción se inactivó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio (50 ml) y agua (50 ml). La mezcla se extrajo con hexanos (200 ml) y acetato de etilo (3 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un aceite. El aceite se disolvió en THF (200 ml). Se añadió gota a gota una solución de cloruro cúprico, dihidrato (52 g) en agua (220 ml) a 0 °C, y la mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió solución acuosa de amoníaco para aumentar el pH aproximadamente a 9. La mezcla se extrajo con hexano (100 ml) y éter dietílico (2 x 100 ml). Los extractos combinados se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 330 g, gradiente de elución de EtOAc del 0 al 15 % en hexanos) produjo (R)-2-hexil-6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona (21,6 g, 60,6 mmol) en forma de un sólido de color blanco que contenía parte del isómero (S), que se retiró en la siguiente etapa. LC/MS $M^{+1} = 357$.

Intermedio 8D: (R)-2-hexil-6-yodo-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno



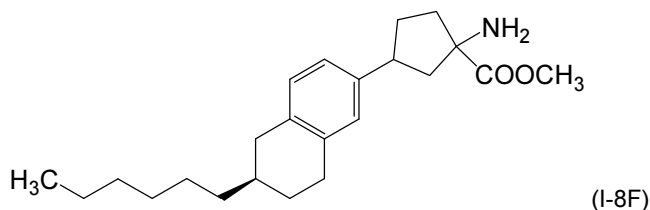
A una solución agitada de (R)-2-hexil-6-yodo-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona (I-8C, 21,6 g, 60,6 mmol) en diclorometano (10 ml) y EtOH al 100 % (100 ml), se añadió en porciones borohidruro de sodio (4,59 g, 121 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h antes de inactivarla mediante la adición lenta de acetona (enfriada con un baño de agua). La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se mezcló con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 ml) y agua (50 ml), y se extrajo con acetato de etilo (100 ml, 2 x 50 ml). Los extractos combinados de acetato de etilo se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un aceite. El aceite se disolvió en trietilsilano (70 ml, 438 mmol). Se añadió TFA (100 ml, 1298 mmol) con agitación vigorosa. La mezcla se agitó a temperatura ambiente en nitrógeno durante 2,5 h. Después de que se añadió agua (150 ml), la mezcla se extrajo con hexanos (100 ml, 2 x 50 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (50 ml) y después con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (50 ml), se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron para obtener un líquido amarillo. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 330 g, gradiente de elución de EtOAc del 0 al 12 % en hexanos) produjo (R)-2-hexil-6-yodo-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno (18,4 g, 53,8 mmol) como un líquido incoloro. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,41 (s, 1H), 7,38 (dd, $J=7,9$, 1,8 Hz, 1H), 6,79 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 2,82-2,71 (m, 3H), 2,31 (dd, $J=16,5$, 10,6 Hz, 1H), 1,93-1,85 (m, 1H), 1,72-1,60 (m, 1H), 1,41-1,24 (m, 11H), 0,92-0,85 (m, 3H). La separación mediante SFC quiral (ChiralPak AS-H 25 x 3,0 cm, 5 μm , $\text{CO}_2/\text{MeOH} = 95/5$, 180 ml/min, 230 nm) produjo (R)-2-hexil-6-yodo-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno (11,8 g, PK2) y su isómero (S) (1,4 g, PK1) en forma de líquidos.

Intermedio 8E: 3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentanona



- 5 Se hizo burbujear gas nitrógeno a través de una mezcla de (R)-2-hexil-6-yodo-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno (I-8D, 11,8 g, 34,5 mmol), cloruro de tetrabutilamonio (9,58 g, 34,5 mmol), acetato de potasio (10,15 g, 103 mmol), acetato de paladio (II) (0,774 g, 3,45 mmol) y DMF anhidro (100 ml) durante 3 min antes de añadir ciclopent-2-enol (6,8 g, 81 mmol, preparado de acuerdo con R.C. Larock et al., Tetrahedron, 1994 50(2), 305-321). Se hizo burbujear gas nitrógeno a través de la solución durante 2 min más. La mezcla se agitó a 80 °C en nitrógeno durante 2,5 h y
- 10 después se concentró para retirar DMF. El residuo se mezcló con agua (150 ml) y se extrajo con acetato de etilo (4 x 50 ml). Las soluciones combinadas de acetato de etilo se lavaron con agua (30 ml), se secaron en sulfato de sodio anhidro, se filtraron a través de una almohadilla de gel de sílice y se concentraron a presión reducida. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 220 g, gradiente de elución de acetato de etilo del 5 al 50 % en hexanos) produjo 3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentanona (5,96 g, 19,97 mmol)
- 15 LC/MS $M^{+1} = 299$.

Intermedio 8F: 1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentancarboxilato de metilo



- 20 Una mezcla de 3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentanona (I-8E, 5,96 g, 19,97 mmol), cloruro de amonio (5,34 g, 100 mmol), cianuro de sodio (4,89 g, 100 mmol), solución 7 M de amoníaco en metanol (28,5 ml, 200 mmol) y diclorometano (15 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 día. Se añadió más cantidad de una solución 7 M de amoníaco en metanol (15 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 día y después
- 25 se concentró. El residuo se dividió en acetato de etilo (70 ml) y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). Las soluciones combinadas de acetato de etilo se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener 1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentancarbonitrilo como un semisólido. El material semisólido se mezcló con una mezcla de ácido clorhídrico concentrado (56 ml, 1843 mmol), agua (28 ml, 1554 mmol), ácido acético (35 ml) y dioxano (35 ml). La mezcla se agitó a 100 °C en nitrógeno durante 10 h y después se concentró para producir un sólido. El sólido se disolvió en metanol (20 ml) y se mezcló con tolueno (20 ml). La mezcla se concentró hasta secarse. Este procedimiento de secado se repitió una vez más para obtener un sólido seco. El sólido se disolvió en metanol anhidro (300 ml). Se añadió gota a gota cloruro de tionilo (11,66 ml, 160 mmol) a 0 °C en nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 7 h antes de concentrarla. El residuo se volvió básico
- 35 con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml) y parte de carbonato de potasio sólido, y se extrajo con acetato de etilo (100 ml, 3 x 30 ml). Los extractos combinados de acetato de etilo se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 80 g, gradiente de elución de acetato de etilo del 20 al 100 % en hexanos) produjo 1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentancarboxilato de metilo (5,7 g, 15,94 mmol) como un líquido.
- 40 LC/MS $M^{+1} = 358$.

Intermedio 8:

- 45 Se disolvió 1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentancarboxilato de metilo (I-8F, 5,7 g, 16 mmol) en EtOH (60 ml) y cloruro de metileno (15 ml). Se añadió borohidruro de sodio (2,5 g, 67 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió lentamente ácido clorhídrico (6 N acuoso, 40 ml) a 0 °C para que el pH fuera aproximadamente de 1. Después de que la mezcla se agitara a temperatura ambiente durante 60 min, se añadió hidróxido de sodio (10 g en 20 ml de agua) para que el pH fuera aproximadamente de 12. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 min antes de concentrarla para retirar los disolventes orgánicos. El residuo acuoso se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml, 2 x 50 ml). Los extractos combinados de acetato de etilo se secaron en sulfato de sodio anhidro, se decoloraron con carbón, se filtraron a través de una almohadilla de Celite y se concentraron a presión reducida para obtener (1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol (5,0 g, 15 mmol) en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplos 1 y 2, y compuestos 3 y 4

El Intermedio 8 se separó en 3 fracciones: F1 (Pico 1), F2 (Pico 2 y Pico 3), F3 (Pico 4) usando SFC quiral (columna: ChiralPak AD-H 25 x 3 cm, 5 μ m; fase móvil: CO₂/(MeOH + DEA al 0,1 %) = 88/12; caudal: 200 ml/min; longitud de onda del detector: 220 nm; temperatura de columna: 35 °C). La segunda fracción (F2) se separó nuevamente usando SFC quiral (columna: ChiralPak AS-H 25 x 3 cm, 5 μ m; fase móvil: CO₂/[MeOH-MeCN (1:1) + DEA al 0,5 %] = 88/12; caudal: 180 ml/min; longitud de onda del detector: 220 nm; temperatura de columna: 35 °C) para obtener el Pico 2 y el Pico 3. Los cuatro isómeros son sólidos blancos con LC/MS M⁺ = 330.

Ejemplo 1 (Pico 2): ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,07-6,95 (m, 3H), 3,54-3,44 (m, 2H), 3,34 (tt, J=11,0, 7,0 Hz, 1H), 2,92-2,74 (m, 3H), 2,39 (dd, J=16,4, 10,7 Hz, 1H), 2,29-2,14 (m, 1H), 2,08-1,84 (m, 3H), 1,76-1,65 (m, 3H), 1,46-1,26 (m, 12H), 0,99-0,85 (m, 3H).

Ejemplo 2 (Pico 4): ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,06-6,92 (m, 3H), 3,52-3,37 (m, 2H), 3,09-2,93 (m, 1H), 2,88-2,72 (m, 3H), 2,35 (dd, J=15,8, 10,6 Hz, 1H), 2,26 (dd, J=12,7, 7,8 Hz, 1H), 2,11-2,00 (m, 1H), 1,97-1,84 (m, 2H), 1,78-1,60 (m, 3H), 1,43-1,22 (m, 12H), 0,95-0,83 (m, 3H).

Compuesto 3 (Pico 1): ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,03-6,92 (m, 3H), 3,46 (s, 2H), 3,39-3,24 (m, 1H), 2,88-2,72 (m, 3H), 2,36 (dd, J=16,3, 10,8 Hz, 1H), 2,27-2,13 (m, 1H), 2,08-1,82 (m, 3H), 1,76-1,63 (m, 3H), 1,43-1,20 (m, 12H), 0,94-0,85 (m, 3H).

Compuesto 4 (Pico 3): ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,02-6,92 (m, 3H), 3,51-3,37 (m, 2H), 3,08-2,94 (m, 1H), 2,87-2,71 (m, 3H), 2,35 (dd, J=16,2, 11,1 Hz, 1H), 2,25 (dd, J=13,1, 7,8 Hz, 1H), 2,12-1,97 (m, 1H), 1,97-1,83 (m, 2H), 1,81-1,59 (m, 3H), 1,43-1,21 (m, 12H), 0,96-0,74 (m, 3H).

Los compuestos 5-8 se prepararon de acuerdo con la síntesis general y los procedimientos de separación del Intermedio 8, Ejemplos 1-2, y los compuestos 3-4 usando el enantiómero (S) (PK1) del Intermedio de yoduro I-8D. Los cuatro isómeros (compuestos 5-8) presentaron un PM = 329,5; LC/MS M⁺ = 330; condición de HPLC: C.

Tabla 1

Ejemplo n.º	Estructura	Nombre	TR de HPLC (min)
1		((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,78
2		((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,78

Tabla 2

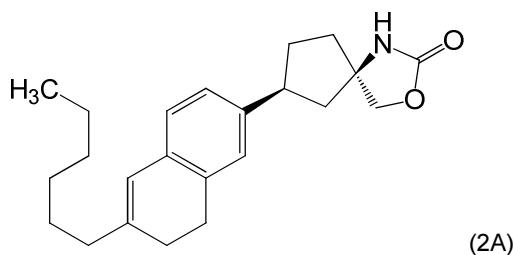
Comparativo n.º	Estructura	Nombre	Tiempo de retención de HPLC (min)
3		((1S,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,78

4		((1S,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,78
5		((1S,3S)-1-amino-3-((S)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,78
6		((1R,3R)-1-amino-3-((S)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,78
7		((1S,3R)-1-amino-3-((S)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,77
8		((1R,3S)-1-amino-3-((S)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol	3,77

Preparación alternativa del Ejemplo 2

Preparación 2A: (5R,7S)-7-(6-hexil-7,8-dihidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona

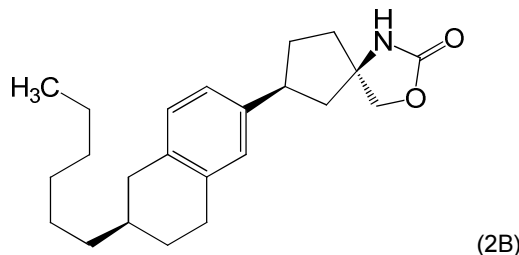
5



10 A una mezcla de trifluorometanosulfonato de 6-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-7-il)-3,4-dihidronaftalen-2-ilo (Intermedio 6, 1 g, 2,396 mmol) y NMP (2,306 ml, 23,96 mmol) en THF (20 ml) a -40 °C, se le añadió una solución de bis(trimetilsilil)amida de litio en THF (2,396 ml, 2,396 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos, y después se añadieron acetilacetato férrico (0,042 g, 0,120 mmol) y bromuro de hexilmagnesio en éter (2,396 ml, 4,79 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y se inactivó con agua. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl 1 M. La capa orgánica se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (40 g) usando un gradiente de EtOAc/hexano (EtOAc al 0-100 % en 12 VC) para obtener 662 mg de (5R,7S)-7-(6-hexil-7,8-dihidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona en forma de un sólido de color blanco. Tiempo de retención de HPLC = 1,28 min (condición G); LC/MS M⁺ = 354: ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,03-6,88 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 5,16 (s a, 1H), 4,44-4,15 (m, 2H), 3,13-2,96 (m, 1H), 2,80 (t, J=8,0 Hz, 2H), 2,47-2,08 (m, 6H), 2,05-1,93 (m, 2H), 1,90-1,73 (m, 1H), 1,68-1,43 (m, 4H), 1,41-1,22 (m, 5H), 1,01-0,83 (m, 3H).

20

Preparación 2B: (5R,7S)-7-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona



- 5 Una mezcla de (5R,7S)-7-(6-hexil-7,8-dihidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (2A, 760 mg, 2,15 mmol) y tetrafluoroborato de (-)-2,3-bis[(2R,5R)-2,5-dimetilfosfolanil]-N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]maleicimida(1,5-ciclooctadien)rodio(I) (273 mg, 0,43 mmol) en MeOH (27 ml) se hidrogenó a 850 psi (5,86 MPa) durante 1000 minutos usando un autoclave de 100 ml de HEL. La mezcla de reacción se filtró y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (40 g) usando un gradiente de EtOAc/hexano (EtOAc al 0-100 % durante 20 minutos) para obtener 640 mg de (5R,7S)-7-(6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona en una relación 1:2 de los dos isómeros. El isómero principal deseado se separó usando una columna CHIRALPAK® AS-H en condiciones de SFC (35% de MeOH en CO₂). Tiempo de retención = 5,14 min. Se recuperaron 400 mg de (5R,7S)-7-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ 7,02-6,91 (m, 3H), 4,47-4,20 (m, 2H), 3,02 (tt, J=11,0, 7,2 Hz, 1H), 2,87-2,74 (m, 3H), 2,41-2,24 (m, 2H), 2,17-2,03 (m, 2H), 2,00-1,89 (m, 3H), 1,86-1,74 (m, 1H), 1,73-1,61 (m, 1H), 1,51-1,28 (m, 11H), 0,99-0,88 (m, 3H).

Preparación alternativa de la Preparación 2B

- 20 Una mezcla de (5R,7S)-7-(6-hexil-7,8-dihidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (2A, 2,1 g, 5,94 mmol) en DCM (10 ml) se añadió gota a gota a una solución de ((1R,2S,3R,5R)-2,6,6-trimetilbicyclo[3.1.1]heptan-3-il)borano en DCM (30 ml) a -35 °C en nitrógeno. (El reactivo de borano se obtuvo de la siguiente manera: A una mezcla de S-Alpine-boramina (8,4 g, 20,18 mmol) en THF (35 ml), se le añadió éterato de BF₃ (5,11 ml, 40,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h, se filtró en nitrógeno, y la torta se lavó con THF frío (2 x 6 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron al vacío. Al residuo se añadió DCM (20 ml), y la solución se volvió a concentrar. El reactivo obtenido se volvió a disolver en DCM (30 ml) y se usó directamente para la etapa de hidrobioración). Después de agitar a una temperatura de -35 °C a -30 °C durante 4 h y de -25 °C a -20 °C durante 2 h, se añadió MeOH (3,6 ml), y la mezcla de reacción se agitó a -10 °C durante 10 min y a 0 °C durante 10 min. La mezcla se diluyó con THF (25 ml), luego se añadió gota a gota una solución de NaOH (6 N, 9,9 ml, 59,4 mmol) y después H₂O₂ (30 %, 6,07 ml, 59,4 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. A la mezcla se añadieron DCM (100 ml) y agua (50 ml). La solución entera se filtró a través de una almohadilla de Celite, y la torta se lavó con DCM. Las dos capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con DCM (50 ml), que se combinó con la capa orgánica. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (100 ml) y salmuera (100 ml), se secaron en Na₂SO₄ anhidro y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (40 g) usando un gradiente de EtOAc/hexano (EtOAc al 0-50 % en 55 minutos) para obtener 1,9 g (86%) de (5R,7S)-7-(6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona en una relación 8:1 de los dos isómeros. La mezcla se usó en la siguiente etapa sin separación de los diastereómeros.

- 40 A (5R,7S)-7-(6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (3,2 g, 8,61 mmol) en MeOH (30 ml), se le añadió Pd/C (10 %, 1,1 g). Se aplicó un leve vacío al matraz de reacción, y después se volvió a llenar con hidrógeno de un globo de hidrógeno. Después de agitar a temperatura ambiente durante 6 h, se añadió EtOAc (20 ml) para disolver el precipitado. Se aplicó un leve vacío al matraz de reacción, después se volvió a llenar con hidrógeno de un globo de hidrógeno, y el contenido se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite, y la torta se lavó con EtOAc, DCM, MeOH y EtOAc. Los disolventes combinados se concentraron al vacío para obtener la mezcla cruda (3,06 g) como una mezcla diastereomérica 8:1. El isómero principal se separó usando una columna CHIRALPAK® AS-H en condiciones de SFC (MeOH al 35% en CO₂). Tiempo de retención = 4,64 min. Se recuperaron 2,35 g (77%) de (5R,7S)-7-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona.

- 50 Ejemplo 2:

- 55 A una mezcla de (5R,7S)-7-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (400 mg, 1,125 mmol) en dioxano (30 ml), se añadió NaOH acuoso (1 N, 20 ml). La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 3 días, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua. La capa orgánica se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó en un cartucho de gel de sílice (24 g) usando un gradiente de 20 % (2 N de NH₃/MeOH) en DCM/DCM (0-75% de 20 % (2 N de NH₃/MeOH) en DCM en 13 VC) para obtener 290 mg de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-

il)ciclopentil)metanol. Tiempo de retención de HPLC = 10,09 min (condición H); LC/MS $M^{+1} = 330$; ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4) δ 7,03-6,91 (m, 3H), 3,54-3,41 (m, 2H), 3,01 (tt, $J=11,1$, 7,2 Hz, 1H), 2,87-2,69 (m, 3H), 2,34 (dd, $J=16,2$, 10,5 Hz, 1H), 2,20 (dd, $J=13,0$, 7,5 Hz, 1H), 2,07-1,84 (m, 3H), 1,83-1,60 (m, 3H), 1,60-1,48 (m, 1H), 1,47-1,25 (m, 11H), 1,00-0,88 (m, 3H).

5

Ejemplo 2, base libre, Forma N-1

El Ejemplo 2, base libre, Forma N-1 se obtuvo preparando una solución de reserva que contenía 385 mg del Ejemplo 2 disuelto en una mezcla de 18 ml de THF y 1,25 ml de H_2O (20 mg/ml). Después, se evaporaron 52 μl de la solución de reserva hasta secarse. Al material seco, se añadieron 52 μl de una relación 50:50 de solución de etanol:heptano. La solución resultante se evaporó para obtener placas de material cristalino.

10

Ejemplo 2, sal mono-HCl, monohidrato, Forma H-1

La sal mono-HCl, monohidrato del Ejemplo 2, Forma H-1 se obtuvo preparando una solución 50:50 de metanol acuoso (200 μl) que contenía 3,2 mg del Ejemplo 2. Después, se añadieron por goteo 400 μl de una solución de HCl acuoso 0,025 M con agitación. La solución resultante se evaporó para obtener placas de material cristalino.

15

Ejemplo 2, sal mono-HCl, monohidrato, Forma H-2

20

La sal mono-HCl, monohidrato del Ejemplo 2, Forma H-2 se obtuvo preparando una solución 50:50 acuosa de THF (200 μl) que contenía 3,2 mg del Ejemplo 2. Después, se añadieron por goteo 400 μl de una solución de HCl acuoso 0,025 M con agitación. La solución después se evaporó para obtener placas de la Forma H-2 monohidrato de la sal mono-HCl del Ejemplo 2.

25

Ejemplo 2, sal mono-HCl, Forma N-3

La sal mono-HCl del Ejemplo 2, Forma N-3 se obtuvo preparando 200 μl de una solución de alcohol de isopropilo que contenía 3,2 mg del Ejemplo 2. Después, se añadieron por goteo 400 μl de HCl 0,025 M en solución alcohólica con agitación. La solución se evaporó para obtener placas de la Forma N-3 de la sal mono-HCl del Ejemplo 2.

30

Ejemplo 2, sal mono-HCl, Forma N-4

La sal mono-HCl del Ejemplo 2, Forma N-3 se obtuvo preparando 200 μl de una solución 50:50 de metanol/THF que contenía 3,2 mg del Ejemplo 2. Después, se añadieron por goteo 400 μl de HCl 0,025 M en solución alcohólica con agitación. La solución resultante se evaporó para obtener placas de la Forma N-4 de la sal mono-HCl del Ejemplo 2.

35

Ejemplo 2, sal del ácido hemi-L-málico, monohidrato, Forma H-1

La sal del ácido hemi-L-málico, monohidrato, Forma H-1 se obtuvo preparando 200 μl de una solución 50:50 acuosa de THF que contenía 3,2 mg del Ejemplo 2. Después, se añadieron por goteo 240 μl de ácido-L-málico 0,042 M en solución alcohólica con agitación. La solución resultante se evaporó para obtener placas de la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-L-málico del Ejemplo 2.

40

Ejemplo 2, sal del ácido hemi-malónico, monohidrato, Forma H-1

La sal del ácido hemi-malónico, monohidrato, Forma H-1 se obtuvo preparando 200 μl de una solución 50:50 acuosa de THF que contenía 3,2 mg del Ejemplo 2. Después, se añadieron por goteo 193 μl de ácido malónico 0,052 M en solución alcohólica con agitación. La solución resultante se evaporó para obtener placas de la Forma H-1 de la sal del ácido hemi-malónico del Ejemplo 2.

50

Ejemplo 2, 1/3-hidrato, sal del ácido fosfórico, Forma H.33-1

Se obtuvo 1/3 hidrato de la sal del ácido fosfórico, Forma H.33-1 preparando 200 μl de una solución 50:50 acuosa de metanol que contenía 3,2 mg del Ejemplo 2. Después, se añadieron por goteo 136 μl de ácido fosfórico 0,073 M en solución alcohólica con agitación. La solución resultante se evaporó para obtener placas de la Forma H.33-1 de la sal del ácido fosfórico del Ejemplo 2.

55

Ejemplo 2, sal del ácido *R*(+)-mandélico, Forma N-1

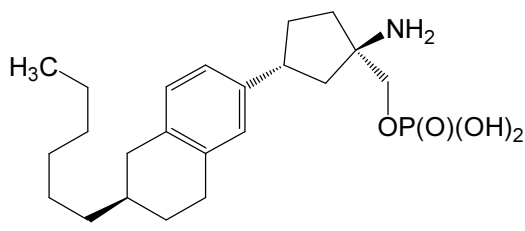
60

La sal del ácido *R*(+)-mandélico, Forma N-1 se preparó añadiendo el Ejemplo 2 y una cantidad equimolar de ácido *R*(+)-mandélico a una mezcla de metanol y acetonitrilo. La solución se evaporó para obtener placas de la Forma N-1 de la sal del ácido mono-*R*(+)-mandélico del Ejemplo 2.

65

Ejemplo 9

Dihidrogenofosfato de ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo

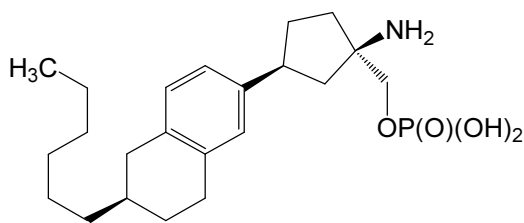


(9)

A una solución agitada de ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol (Ejemplo 1, 10 mg, 0,030 mmol) en acetonitrilo anhidro (1 ml) a 0 °C, se le añadió cloruro de pirofosforilo (0,042 ml, 0,303 mmol). La solución transparente obtenida se agitó a la misma temperatura durante 5 min y a temperatura ambiente durante la noche. Después de añadir agua (0,4 ml), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La purificación mediante HPLC de fase inversa (Luna AXIA 5u c18 30 x 100 mm, 10 min, gradiente de 40 % a 100 % de disolvente B, disolvente A: TFA al 0,1 % en agua, disolvente B: TFA al 0,1 % en MeCN), la concentración y la liofilización produjeron dihidrogenofosfato de ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo (2 mg, 4,15 μ mol, 13,68 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. HPLC tiempo de retención = 3,94 min (condición C); LC/MS $M^{+1} = 410$; 1H RMN (500 MHz, METANOL- d_4 + KOH) δ 6,97-6,87 (m, 3H), 3,77-3,71 (m, 1H), 3,71-3,66 (m, 1H), 2,83-2,70 (m, 3H), 2,32 (dd, $J=16,2, 10,7$ Hz, 1H), 2,14-1,98 (m, 2H), 1,96-1,83 (m, 2H), 1,74-1,60 (m, 3H), 1,59-1,49 (m, 1H), 1,45-1,26 (m, 11H), 0,94-0,87 (m, 3H), un protón en pico de disolvente metanol (~3,3 ppm).

Ejemplo 10

Dihidrogenofosfato de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo

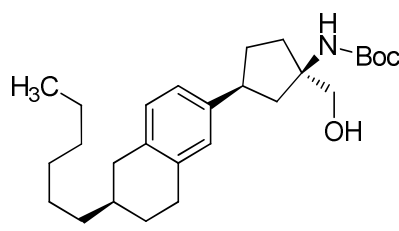


(10)

Una mezcla de pentóxido de fósforo (150 mg, 0,528 mmol) y 85 % de ácido fosfórico (0,15 ml, 10,01 μ mol) se agitó a 100 °C en nitrógeno durante 1 h antes de añadir ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol (Ejemplo 1, 6 mg, 0,018 mmol). La solución se agitó a la misma temperatura durante 3 h. Se añadió agua (0,5 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La purificación mediante HPLC de fase inversa (Phenomenex Luna AXIA 5u c18 30 x 100 mm, 10 minutos de ejecución, disolvente A: MeOH al 10 %: 90 % de H_2O : TFA al 0,1 %, disolvente B: MeOH al 90 %, 10 % de H_2O , TFA al 0,1 %), la concentración y la liofilización produjeron dihidrogenofosfato de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo (4 mg, 9,38 μ mol) en forma de un sólido de color blanco. LC/MS $M^{+1} = 410$. Tiempo de retención de HPLC = 3,96 min (condición C). 1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4 + $CDCl_3$) δ 7,10-6,83 (m, 3H), 4,06-3,77 (m, 2H), 3,20-3,06 (m, 1H), 2,85-2,74 (m, 2H), 2,48 (dd, $J=12,9, 6,9$ Hz, 1H), 2,40-2,28 (m, 1H), 2,19-2,08 (m, 1H), 2,05-1,90 (m, 4H), 1,80-1,62 (m, 2H), 1,48-1,22 (m, 12H), 0,95-0,86 (m, 3H).

Preparación alternativa del Ejemplo 10

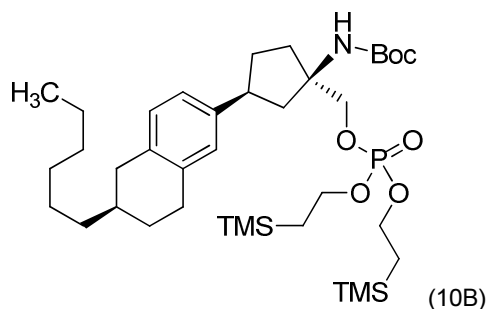
Preparación alternativa 10A: ((1R,3S)-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-1-(hidroximetil)ciclopentil)carbamato de terc-butilo



(10A)

A una solución agitada de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metanol (Ejemplo 2, 270 mg, 0,819 mmol) en diclorometano anhidro (6 ml), se le añadió dicarbonato de di-terc-butilo (536 mg, 2,458 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se concentró. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 24 g, gradiente de elución de acetato de etilo del 10 al 60 % en hexanos) produjo ((1R,3S)-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-1-(hidroximetil)ciclopentil)carbamato de terc-butilo (337 mg, 0,784 mmol, 96 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. LC/MS $M^{+1} = 430$.

Preparación alternativa 10B: ((1R,3S)-1-(((bis(2-(trimetilsilil)etoxi)fosforil)oxi)metil)-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)carbamato de terc-butilo



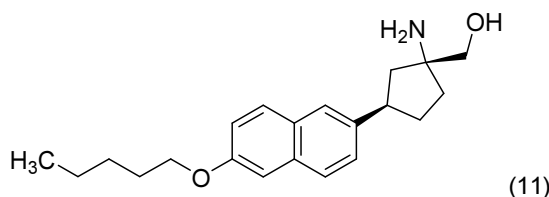
A una solución agitada de ((1R,3S)-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-1-(hidroximetil)ciclopentil)carbamato de terc-butilo (Preparación 10A, 336 mg, 0,782 mmol) en cloruro de metileno anhidro (7 ml), se le añadió en una porción bis(2-(trimetilsilil)etil)diisopropilfosforamidito (858 mg, 2,346 mmol) a 0 °C en nitrógeno. Después, se añadió 1, 2, 4-1H-triazol (162 mg, 2,346 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 18 h. La solución se enfrió a 0 °C antes de añadir peróxido de hidrógeno (0,781 ml, 7,82 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos y a temperatura ambiente durante 1 h antes de añadir metanol (3 ml) para que la mezcla fuera una solución homogénea. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió una solución acuosa saturada de tiosulfato de sodio (5 ml) para inactivar la reacción. La mezcla se concentró a presión reducida y se extrajo con acetato de etilo (3 x 4 ml). Las soluciones orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 24 g, gradiente de elución de acetato de etilo del 5 al 25 % en hexanos) produjo ((1R,3S)-1-(((bis(2-(trimetilsilil)etoxi)fosforil)oxi)metil)-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)carbamato de terc-butilo (514 mg, 0,724 mmol) como un líquido.

Ejemplo 10:

A una solución agitada de ((1R,3S)-1-(((bis(2-(trimetilsilil)etoxi) fosforil)oxi)metil)-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)carbamato de terc-butilo (Preparación 10B, 500 mg, 0,704 mmol) en diclorometano (6 ml), se le añadió lentamente TFA (6 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h antes de añadir 90 ml de heptanos. La solución se concentró a presión reducida. Después, se añadieron 70 ml de metanol al residuo sólido, y después NaOH acuoso 1 N (4 ml). Después, se añadió HOAc (0,4 ml) a 60 °C para acidificar la solución a pH = 4. La mezcla de sólido-líquido se agitó a 60 °C durante 1 h. El sólido se separó, se lavó con metanol, agua, metanol, acetato de etilo y metanol. La liofilización produjo dihidrogenofosfato de ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)ciclopentil)metilo (257 mg, 0,619 mmol, 88 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. LC/MS $M^{+1} = 410$; ^1H RMN (400 MHz, METANOL- d_4)(+KOH) δ 7,00-6,86 (m, 3H), 3,78-3,62 (m, 2H), 3,09-2,97 (m, 1H), 2,84-2,67 (m, 3H), 2,38-2,22 (m, 2H), 2,03-1,74 (m, 4H), 1,73-1,60 (m, 2H), 1,50 (t, $J=12,3$ Hz, 1H), 1,44-1,27 (m, 11H), 0,95-0,86 (m, 3H).

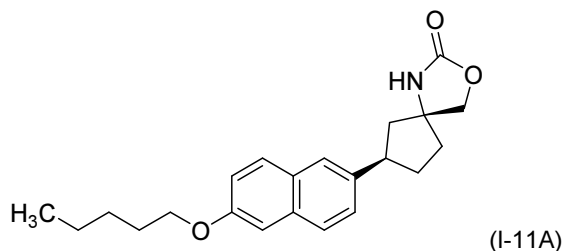
Compuesto comparativo 11

(1R,3R)-1-amino-3-(6-(pentiloxi)naftalen-2-il)ciclopentil)metanol



El compuesto comparativo 11 se desveló en WO 2008/079382, Ejemplo Q.1.

Intermedio 11A: (5R,7R)-7-(6-(pentiloxi)naftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona



- 5 Una mezcla de 1-pentanol (6,13 ml, 56,4 mmol), ácido p-toluensulfónico monohidrato (4,60 mg, 0,024 mmol) y trimetoximetano (0,353 ml, 3,22 mmol) se agitó a 100 °C durante 3 h con un flujo lento de aire sobre la mezcla para retirar el metanol y parte del pentanol. El líquido residual obtenido se mezcló con (5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (Intermedio 7, 230 mg, 0,806 mmol) y se agitó a 100 °C en nitrógeno durante 2,5 h. La solución se enfrió a temperatura ambiente antes de añadir paladio sobre carbón
- 10 (172 mg, 0,081 mmol) y después acetato de etilo (4 ml). La mezcla se agitó en un globo a presión de hidrógeno a temperatura ambiente durante la noche. Las mezclas resultantes se filtraron a través de un filtro de membrana, y el filtrado se concentró. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 24 g, acetato de etilo del 0 % al 70 % en hexanos) produjo 180 mg de material que requería purificación adicional. La separación cromatográfica de fluido supercrítico produjo una fracción principal mediante el análisis de UV identificado como
- 15 (5R,7R)-7-(6-(pentiloxi)naftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (36 mg) en forma de un sólido. Instrumento: SFC-MS analítica Thar 350; condiciones: condiciones analíticas: columna analítica: AD-H (0,46 x 25 cm, 5 µm); presión BPR: 100 bar; temperatura: 45 °C; caudal: 3,0 ml/min; fase móvil: CO₂/MeOH (70/30); longitud de onda del detector: UV 200-400 nm. Condiciones preparativas: columna preparativa: AD-H (3 x 25 cm, 5 µm); presión BPR: 100 bar; temperatura: 35 °C; caudal: 120 ml/min; fase móvil: CO₂/MeOH (70/30); longitud de onda del detector:
- 20 220 nm; programa de separación: inyección apilada; inyección: 2,5 ml con tiempo de ciclo de 480 s (tiempo de retención de SFC analítica = 11,68 min, pureza >99,5%). Tiempo de retención de HPLC = 1,11 min (condición G); LC/MS M⁺ = 354. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,68 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,55 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,21-7,04 (m, 2H), 6,48 (s a, 1H), 4,50-4,28 (m, 2H), 4,07 (t, J=6,6 Hz, 2H), 3,49-3,31 (m, 1H), 2,46 (dd, J=13,3, 7,6 Hz, 1H), 2,39-2,24 (m, 1H), 2,24-2,12 (m, 1H), 2,12-2,00 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 1H), 1,90-1,76 (m, 3H), 1,58-1,30 (m,
- 25 4H), 0,96 (t, J=7,0 Hz, 3H).

Compuesto comparativo 11:

- 30 A una solución de (5R,7R)-7-(6-(pentiloxi)naftalen-2-il)-3-oxa-1-azaspiro[4.4]nonan-2-ona (36 mg, 0,102 mmol) en dioxano (2 ml) y agua (0,8 ml), se le añadió LiOH (36,6 mg, 1,528 mmol). La solución se calentó a 90 °C y se agitó durante 15 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en acetato de etilo y se lavó con agua. Después, el material en bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa [columna: Luna Axia 30 x 100 mm; tiempo de gradiente: 10 min; caudal = 40 ml/min; disolvente A = MeOH al 10 %-agua al 90 %-TFA al 0,1 %; disolvente B = MeOH al 90 %-agua al 10 %-TFA al 0,1 %; % de inicio de B = 20; % final de B = 100]. Las fracciones
- 35 que contenían el producto se recolectaron y se secaron a alto vacío para obtener ((1R,3R)-1-amino-3-(6-(pentiloxi)naftalen-2-il)ciclopentil)metanol, TFA (31 mg) en forma de un sólido. Tiempo de retención de HPLC = 0,90 min (condición G); LC/MS M⁺ = 328. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ 7,75-7,66 (m, 2H), 7,66-7,59 (m, 1H), 7,40-7,33 (m, 1H), 7,17 (d, J=2,6 Hz, 1H), 7,14-7,08 (m, 1H), 4,07 (t, J=6,5 Hz, 2H), 3,74-3,60 (m, 2H), 3,59-3,41 (m, 1H), 2,39-2,22 (m, 3H), 2,04-1,80 (m, 5H), 1,55-1,34 (m, 4H), 1,01-0,89 (m, 3H).

40

ENSAYOS BIOLÓGICOS

Ensayo de fosforilación de sangre entera (WBP) de ratón:

- 45 Los compuestos de la Fórmula (III) requieren de bioactivación mediante la fosforilación del alcohol, a fin de proporcionar un compuesto de éster de fosfato activo de la Fórmula (II). De acuerdo con Brinkmann, V. et al. (*J. Biological Chem.* 2002, 277, 21453-21457), la configuración estereoisomérica del centro de carbono que contiene la amina puede influir en el alcance relativo en el que se produce esta fosforilación.
- 50 El alcance relativo de la fosforilación de los Ejemplos 1-2 y los compuestos 3-8 se evaluó mediante la incubación de los compuestos de alcohol en la sangre entera de un ratón. La apariencia del compuesto fosforilado se midió después de 4 horas para determinar el alcance relativo de la formación del éster de fosfato. La sangre entera se obtuvo de manera inmediata de ratones BALB/C mediante sangrado retroorbital y se recolectó en tubos que contenían EDTA. La sangre entera tratada con EDTA se dividió en alícuotas en tubos de 1,4 ml de polipropileno en
- 55 formato de 96 pocillos (100 µl por muestra) y se le añadió el compuesto de prueba (1 mM en DMSO) para obtener una concentración final de 10 µM (n = 2 por compuesto). Los tubos se sellaron, se agitaron vorticialmente y después se transfirieron a un agitador orbital para la incubación a 37 °C, 225 rpm durante 4 horas. Al final de la incubación, se

colocaron gotas de las muestras en papel de recolección de muestras sin tratar Ahlstrom 226 (25 µl por gota n = 2) y se secaron durante la noche. Las tarjetas de gotas de sangre seca (DBS) se almacenaron a temperatura ambiente en bolsas de plástico selladas, y se añadió desecante. Cuando estuvieron listas para el análisis, se tomó una muestra con un punzón de 6 mm (equivalente a 12,5 µl de sangre húmeda) a n = 1 y se colocó en una placa de filtro de 96 pocillos poco profunda. Después, se añadieron 105 µl de una mezcla de acetonitrilo al 75 % y estándar interno que contenía agua al 25 %, se agitó suavemente vorticialmente durante 30 min y después se centrifugó. El sobrenadante se separó del sedimento de proteína, y se inyectaron 5 µl. Los compuestos de origen (alcohol) y éster de fosfato activo se analizaron cuantitativamente, usando una curva de calibración DBS, mediante LC/MS/MS en un instrumento de triple cuadrupolo. Se determinaron las relaciones de área del compuesto fosforilado con respecto al compuesto de origen (alcohol). El valor superior de la relación entre el compuesto fosforilado y el compuesto de origen (alcohol) indicó una mayor formación del compuesto de éster de fosfato en comparación con el compuesto de origen (alcohol). La Tabla 2 muestra los resultados (promedio de dos experimentos) de los Ejemplos 1-2 y los compuestos 3-8 a las 4 horas. Para los Ejemplos 1-2 y el compuesto 6, las relaciones de área de la formación del compuesto de éster de fosfato de los compuestos de origen (alcohol) a las 4 horas fueron de al menos 0,59. Por el contrario, las relaciones de área de la formación del compuesto de éster de fosfato de los compuestos de origen (alcohol) para los compuestos 3-5 y 7-8 fueron de 0,17 o menos. En este estudio, se descubrió que los Ejemplos 1-2 y el compuesto 6 se sometieron a fosforilación en un mayor alcance que los compuestos 3-5 y 7-8.

Tabla 2

Fosforilación de sangre entera de ratón - Alcance de la fosforilación	
Ejemplo o compuesto n.º	Relación de área de fosfato de sangre entera de ratón a 4 h
1	1,60
2	0,59
3	0,07
4	0,14
5	0,03
6	0,60
7	0,02
8	0,17

Formación de éster de fosfato *in vivo* en ratones

Los ratones BALB/c recibieron dosis por vía oral del Ejemplo 1, Ejemplo 2, compuesto 3 y compuesto 4 (10 mg/kg como una solución o suspensión en el vehículo, polietilenglicol 300, "PEG300"). Se extrajeron muestras de sangre a las 24 h, se colocaron en forma de gotas en las tarjetas de gotas de sangre seca (DBS) y se analizaron como se describió para el ensayo WBP. El material de referencia (alcohol de origen y éster de fosfato) se analizó para optimizar el ensayo de LC-MS/MS y permitir el informe de datos en cuanto a las concentraciones. Las curvas estándares DBS que contenían los compuestos de alcohol de origen y de éster de fosfato se prepararon y se analizaron de la misma manera que las muestras del estudio, y se analizaron mediante LC-MS/MS optimizada para cuantificar la cantidad de compuesto de éster de fosfato formado. Los resultados en la Tabla 3 representan los resultados promedio de todos los animales en cada grupo de tratamiento (n = 3). El valor superior de la concentración del compuesto de éster de fosfato indicó una formación del compuesto de éster de fosfato mayor que la del compuesto de origen (alcohol). En este estudio, se descubrió que los Ejemplos 1-2 se sometieron a la formación de éster de fosfato en un mayor alcance que los compuestos 3-4. Los resultados de este estudio *in vivo* son coherentes con los resultados obtenidos en el estudio de fosforilación de sangre entera de ratón anterior.

Tabla 3

Formación de fosfato <i>in vivo</i> en ratones		
Ejemplo o compuesto n.º	Dosis (mg/kg)	Fosfato a las 24 h (nM)
1	10	475
2	10	202
3	10	14
4	10	46

Ensayo de fijación de S1P₁:

Las membranas se prepararon de células CHO que expresaban S1P₁ humano. Los sedimentos celulares (1 x 10⁹ células/sedimento) se suspendieron en un tampón que contenía HEPES 20 mM (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetsulfónico), pH 7,5, NaCl 50 mM, EDTA 2 mM (ácido etilendiaminatetraacético) y cóctel de inhibidor de proteasa (Roche), y se alteraron en hielo usando el homogeneizador Polytron. El homogenado se centrifugó a 20.000 rpm (48.000 g), y el sobrenadante se descartó. Los sedimentos de membrana se volvieron a suspender en tampón que contenía HEPES 50 mM, pH 7,5, NaCl 100 mM, MgCl₂ 1 mM, EDTA 2 mM y se almacenaron en alícuotas a -80 °C después de la determinación de la concentración proteica.

Se añadieron membranas (2 µg/pocillo) y 0,03 nM de concentración final de ligando ^{33}P -S1P (1 mCi/ml, Perkin elmer o American Radiolabeled Chemicals) diluido en tampón del ensayo (HEPES 50 mM, pH 7,4, MgCl_2 5 mM, CaCl_2 1 mM, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,5 % libre de ácidos grasos, NaF 1 mM) a las placas de compuestos (placa Falcon de 384 pocillos con fondo en forma de V (0,5 µl/pocillo en una dilución de 11 puntos, de 3 veces). La fijación se llevó a cabo durante 45 minutos a temperatura ambiente y finalizó con la recolección de las membranas en placas de filtro de 384 pocillos Millipore FB; la radioactividad se midió mediante TOPCOUNT®. Los datos de competencia de los compuestos de prueba en un rango de concentraciones se graficaron como porcentaje de inhibición de la fijación específica de radioligandos. La IC_{50} se define como la concentración de ligandos competidores necesaria para reducir la fijación específica en un 50 %. Se determinó que la IC_{50} del Ejemplo 10 era de 0,01 nM.

Ensayos de fijación del receptor ^{35}S GTP γ S:

Los compuestos se cargaron en una placa Falcon de 384 pocillos con fondo en forma de V (0,5 µl/pocillo en una dilución de 11 puntos, de 3 veces). Las membranas preparadas de células S1P $_1$ /CHO o células EDG3-Ga15-bla HEK293T (EDG3 equivalente S1P $_3$) se añadieron a la placa de compuestos (40 µl/pocillo, 3 µg/pocillo de proteína final) con MULTIDROP®. Se diluyó ^{35}S GTP (1250 Ci/mmol, Perkin Elmer) en un tampón de ensayo: HEPES 20 mM, pH 7,5, MgCl_2 10 mM, NaCl 150 mM, EGTA 1 mM (ácido etilenglicol tetraacético), DTT 1 mM (Ditiotreitol), GDP 10 µM, BSA al 0,1 % libre de ácidos grasos y 10 µg/ml de saponina a 0,4 nM. Se añadieron 40 µl de la solución ^{35}S GTP a la placa de compuestos con una concentración final de 0,2 nM. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 45 min. Al final de la incubación, todas las mezclas en la placa de compuestos se transfirieron a las placas de filtro de 384 pocillos Millipore FB mediante el distribuidor de líquidos VELOCITY11® Vprep. La placa de filtro se lavó con agua 4 veces usando la lavadora de placas Embla y se secó a 60 °C durante 45 min. Se añadió fluido de centelleo MicroScint 20 (30 µl) a cada pocillo para el conteo en Packard TOPCOUNT®. EC_{50} se define como la concentración de agonista que corresponde al 50 % de Y_{max} (respuesta máxima) obtenida para cada compuesto analizado. Se determinó que la EC_{50} del Ejemplo 10 era de 0,9 nM en el ensayo, utilizando membranas preparadas de células S1P $_1$ /CHO. Se determinó que la EC_{50} del Ejemplo 10 era de >62.500 nM en el ensayo, utilizando membranas preparadas de células EDG3-Ga15-bla HEK293T.

El valor más bajo del valor GTP γ S S1P $_1$ EC_{50} indicó mayor actividad del compuesto en el ensayo de fijación de GTP γ S S1P $_1$. El valor más alto del valor GTP γ S S1P $_3$ EC_{50} indicó menor actividad en el ensayo de fijación de GTP γ S S1P $_3$. El Ejemplo 10, que es el éster de fosfato activo del Ejemplo 2, presentó actividad como agonista de S1P $_1$ y es selectivo de S1P $_3$. Por ende, los compuestos de la presente invención, que incluyen los Ejemplos 1-2 y 9-10, se pueden usar para tratar, prevenir o curar varias afecciones relacionadas con el receptor S1P $_1$, a la vez que reducen o minimizan los efectos secundarios causados por la actividad de S1P $_3$. La sorprendente selectividad de los compuestos de la presente invención indica su uso potencial para el tratamiento, la prevención o la cura de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad intestinal inflamatoria, lupus o psoriasis, a la vez que reducen o minimizan los posibles efectos secundarios causados por la actividad de S1P $_3$. Otros posibles usos de los compuestos de la presente invención incluyen minimizar o reducir el rechazo a los órganos trasplantados y, al mismo tiempo, reducir o minimizar los efectos secundarios causados por la actividad de S1P $_3$.

Ensayo de internalización del receptor S1P $_1$:

Las células CHO-K1 que expresaban un receptor S1P $_1$ etiquetado con GFP se colocaron en placas de cultivo tisular de 384 pocillos recubiertas con poli-D-lisina a razón de 4×10^3 células/pocillo en 50 µl de un medio de ensayo (F12 con L-glutamina, 10 % de carbón/FBS tratado con dextrano, 1x de penicilina-estreptomicina, HEPES 1 M). Las placas celulares se incubaron durante la noche a 37 °C/5% de CO_2 . El compuesto de prueba se introdujo en la placa celular de una placa de origen del compuesto en diluciones seriales de 11 puntos, de 3 veces, y después las placas de ensayo se incubaron a 37 °C/5% de CO_2 durante 45 min. Las células se fijaron y se tiñeron con formaldehído al 6 % y 15 µg/ml de colorante Hoechst en PBS (libre de Ca^{2+} / Mg^{2+}) a temperatura ambiente durante 15 minutos. Las placas celulares se lavaron 4 veces con PBS (libres de Ca^{2+} / Mg^{2+}), y se añadieron 50 µl/PBS antes de sellar las placas. Las imágenes se tomaron mediante el generador de imágenes de alto contenido Cellomics ArrayScan VT1. El análisis de datos para la determinación de EC_{50} con respecto al compuesto de control interno se obtuvo usando CompartmentalAnalysis BioApplication en Array Scan. La EC_{50} se define como la concentración de agonista que corresponde al 50 % de Y_{max} (respuesta máxima) obtenida para cada compuesto evaluado y se cuantificó usando la ecuación logística de 4 parámetros para ajustar los datos. Se determinó que la EC_{50} del Ejemplo 9 era de 361 nM en el ensayo.

Ensayo de reducción de linfocitos en sangre (BLR) en roedores:

Las ratas Lewis recibieron dosis orales con el vehículo en solitario (polietilenglicol 300, "PEG300") o con 2-amino-2-[2-(4-octilfenil)etil]-1,3-propanodiol, clorhidrato (CAS: 162359-56-0) como una solución en el vehículo en dosis de 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg y 3,0 mg/kg ajustadas para reflejar la cantidad libre del artículo de prueba. Los resultados se proporcionan en la Tabla 4a, y el nivel de reducción linfocítica a las 24 h después de la dosis alcanzó el máximo a 3,0 mg/kg. El porcentaje de reducción de linfocitos está relacionado con la dosis, pero la relación no es lineal; es

necesario que se produzcan aumentos no proporcionales de la dosis para provocar reducciones secuencialmente mayores en los recuentos de linfocitos. Por ejemplo, en este estudio, para demostrar un cambio del 13% (de 69% de reducción a 82% de reducción) fue necesario un aumento de la dosis de 5 veces (de 0,1 mg/kg a 0,5 mg/kg). Además, para demostrar un cambio adicional de 7% en este estudio (de 82% de reducción a 89% de reducción) fue necesario un aumento de la dosis de 6 veces (de 0,5 mg/kg a 3,0 mg/kg). Los ratones BALB/c recibieron dosis orales con el vehículo solo (polietilenglicol 300, "PEG300") o con el Ejemplo 1, Ejemplo 2, compuesto 6, compuesto 8 o compuesto comparativo 11. Se administraron dosis de los compuestos como una solución o suspensión en el vehículo, ajustadas para reflejar la cantidad libre del artículo de prueba en caso que se utilicen formas de sales. Se extrajeron muestras de sangre a las 24 h, y se determinaron los recuentos de linfocitos en sangre en un analizador hematológico ADVIA 120 (Siemens Healthcare Diagnostics). Los resultados se analizaron como una reducción del porcentaje de linfocitos en circulación en comparación con el grupo tratado con el vehículo al momento de la medición. Los resultados representan los resultados promedio de todos los animales en cada grupo de tratamiento (n = 2-4). Los resultados del ensayo de reducción de linfocitos en sangre (BLR) en ratones descrito anteriormente se muestran en la Tabla 4b.

Tabla 4a

2-amino-2-[2-(4-octilfenil)etil]-1,3-propanodiol, clorhidrato					
Dosis (mg/kg)	Ensayo de reducción de linfocitos en sangre en ratas 24 h después de la dosis				
	Compuesto		Vehículo de control		Porcentaje de reducción frente a control
	Media	SEM	Media	SEM	
0,1	2,78	0,17	9,01	0,19	69%
0,5	1,64	0,25	9,01	0,19	82%
3,0	1,02	0,06	9,01	0,19	89%

Tabla 4b

Ejemplo o compuesto n.º	Dosis (mg/kg)	Ensayo de reducción de linfocitos en sangre en ratones 24 h después de la dosis				
		Compuesto		Vehículo de control		Porcentaje de reducción frente a control
		Media	SEM	Media	SEM	
1	1	0,7	0,11	5,39	0,67	88%
2	1	0,54	0,20	5,39	0,67	90 %
6	1	1,2	0,21	5,9	1,75	78%
8	1	2,4	0,35	5,9	1,75	59%
11	1	2,18	0,63	4,58	0,14	52%

Ensayo de toxicidad pulmonar

Los análisis de los niveles proteicos en el fluido de lavado broncoalveolar (BAL) obtenido de un animal se usaron para evaluar los efectos secundarios pulmonares. El aumento de los niveles de proteínas en el fluido BAL indicaron efectos pulmonares no deseados, tales como edema pulmonar. Se administraron en forma oral el Ejemplo 1, Ejemplo 2, compuesto 6, compuesto 8 y compuesto 11 a los ratones en una dosis de 30 mg/kg. Los ratones se sometieron a eutanasia 24 h después de la dosis con una sobredosis de barbitúricos intraperitoneales. Los animales se colocaron en posición supina, se realizó una incisión en la piel y se produjo una disección roma para exponer la tráquea. Se realizó una incisión en la tráquea, y se colocó un catéter de 4-6 mm en la tráquea. Se administró una infusión de solución salina amortiguada con fosfato (PBS; 1 ml/ratón) en los pulmones y después se aspiró. La concentración de la proteína BAL en el fluido BAL recuperado se determinó en un analizador químico Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics). Los resultados del ensayo de lavado broncoalveolar (BAL) se muestran en la Tabla 5. Los resultados representan los resultados promedio de todos los animales en cada grupo de tratamiento (n = 2-4).

Tabla 5

Ejemplo o compuesto n.º	Dosis (mg/kg)	Nivel de proteínas BAL en ratones (mg/dl) (24 h después de la dosis)				
		Compuesto		Vehículo de control		Proteína BAL relativa frente control
		Media	SEM	Media	SEM	
1	30	8,25	1,0	8,3	0,33	0,99
2	30	8,0	0,0	8,3	0,33	0,96
6	30	14,3	2,0	7,3	1,3	1,96
8	30	7,5	1,0	7,3	1,0	1,03
11	30	13,3	0,5	10,0	1,0	1,33

La Tabla 5 muestra los niveles de proteína BAL relativa a las 24 h para los compuestos evaluados, en comparación con la administración de vehículo solamente. El valor de la proteína BAL relativa con respecto al control mayor de 1 indicó el aumento de la toxicidad pulmonar en comparación con la administración del vehículo solamente. En este

estudio, como se informó en la Tabla 5, la administración de los Ejemplos 1 y 2 produjo niveles de proteína BAL relativa de 0,99 y 0,96, lo cual indicó que no se produjo un aumento de la toxicidad pulmonar. La administración del compuesto 8 produjo un nivel de proteína BAL relativa de 1,03, lo cual indicó un aumento leve o nulo de la toxicidad pulmonar. Por el contrario, la administración del compuesto 6 y del compuesto 11 produjo niveles de proteína BAL

relativa de 1,94 y 1,33, lo cual indicó el aumento de la toxicidad pulmonar.

Los compuestos de la presente invención, como se ejemplifica mediante los Ejemplos 1 y 2, se compararon con a) los compuestos 6 y 8; y b) el compuesto comparativo 11, desvelado en el documento WO 2008/079382, y se descubrió que son especialmente ventajosos. Los compuestos de la presente invención presentaron la sorprendente ventaja de combinar la actividad reductora de linfocitos en sangre y minimizar los efectos secundarios pulmonares, tales como el edema pulmonar. Como se muestra en las Tablas 4b y 5, en las pruebas informadas, los Ejemplos 1 y 2 de la presente invención muestran la sorprendente ventaja en cuanto a la eficacia de reducir los linfocitos en sangre sin aumentar la proteína BAL, una medición de los efectos secundarios pulmonares. Por ejemplo, en comparación con los compuestos 6, 8 y 11, los compuestos ejemplificados de la invención informados en las Tablas 4b y 5 redujeron los linfocitos en sangre en un 88 % y 90 %, y produjeron niveles de proteína BAL relativa de 0,99 y 0,96, respectivamente, lo cual indicó que no se produjo un aumento de los efectos secundarios pulmonares. Por el contrario, en pruebas similares, el compuesto 6 y el compuesto comparativo 11 redujeron los linfocitos en sangre en 78 % y 52 %, y produjeron niveles de proteína BAL relativa de 1,96 y 1,33, respectivamente, lo cual indicó un aumento del riesgo de efectos secundarios pulmonares. El compuesto 8 redujo los linfocitos en sangre en 59 % y produjo niveles de proteína BAL relativa de 1,03, lo cual indicó un aumento leve o nulo de los efectos secundarios pulmonares.

Tabla 6

Reducción de linfocitos en sangre en ratones y niveles de proteína BAL en ratones de las Tablas 4b y 5		
Ejemplo o compuesto n.º	Ensayo de reducción de linfocitos en sangre en ratones 24 h después de la dosis (porcentaje de reducción frente a control) a 1 mg/kg	Nivel de proteínas BAL en ratones (24 h después de la dosis) Proteína BAL relativa frente a control a 30 mg/kg
1	88%	0,99
2	90 %	0,96
6	78%	1,96
8	59%	1,03
11	52%	1,33

Los compuestos de la presente invención tienen actividad como agonistas del receptor S1P₁, lo que produce la reducción de linfocitos en circulación en sangre y, por ende, se pueden usar para el tratamiento, la prevención o la cura de diversas afecciones relacionadas con el receptor S1P₁, a la vez que reducen o minimizan los efectos secundarios pulmonares, tales como el edema pulmonar. La sorprendente selectividad de los compuestos de la presente invención indica su uso potencial para el tratamiento, la prevención o la cura de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad intestinal inflamatoria, lupus o psoriasis, a la vez que reducen o minimizan los posibles efectos secundarios pulmonares. Otros posibles usos de los compuestos de la presente invención incluyen minimizar o reducir el rechazo a los órganos trasplantados y, al mismo tiempo, reducir o minimizar los posibles efectos secundarios pulmonares.

Ensayo de artritis inducida por adyuvante en ratas (AA)

El modelo de artritis inducida por adyuvante en ratas es un modelo animal para la artritis reumatoide en humanos.

Las ratas macho Lewis (150-175 g; Harlan, n = 8 grupo de tratamiento) se inmunizaron en la base de la cola con 100 µl de 10 mg/ml de *Mycobacterium butyricum* recientemente molido (Difco Laboratories) en adyuvante de Freund incompleto (Sigma). Los animales recibieron dosis diarias del artículo de prueba (como solución o suspensión en el vehículo) o del vehículo en solitario (polietilenglicol 300, "PEG300") desde el día de la inmunización. Los volúmenes en las patas traseras se midieron en un pletismómetro de desplazamiento de agua (Ugo Basile, Italia). Las mediciones de referencia de las patas se tomaron antes del inicio de la enfermedad (entre el día 7 y el día 10). Las mediciones de las patas se tomaron 3 veces por semana hasta el final del estudio, del día 20 al 21. Todos los procedimientos donde hubo animales involucrados fueron evaluados y aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (*Institutional Animal Care Use Committee*).

El Ejemplo 2 de la presente invención se evaluó en el ensayo de artritis inducida por adyuvante en ratas descrito anteriormente, y los resultados se muestran en la Tabla 7. El compuesto de la presente invención, como se indicó en el Ejemplo 2, en el ensayo informado, mostró la inhibición de la progresión de la enfermedad, medida según la reducción de la inflamación de las patas en ratas Lewis usando un régimen de dosis oral profiláctico.

Tabla 7

Grupo	Inflamación de las patas (ml) el día 20	
Vehículo	Media	1,78
	SEM	0,14
Ejemplo 2 (0,15 mg/kg)	Media	1,64
	SEM	0,10
Ejemplo 2 (0,5 mg/kg)	Media	0,70
	SEM	0,13
Ejemplo 2 (1,5 mg/kg)	Media	0,16
	SEM	0,04

Ensayo de colitis inducida por la transferencia de linfocitos T en ratones

- 5 El ensayo de colitis inducida por la transferencia de linfocitos T en ratones es un modelo animal de colitis humana.

La colitis se indujo en ratones CB-17 SCID mediante la transferencia adoptiva de linfocitos T CD4⁺CD45RB^{alto} clasificados según FACS de ratones BALB/c (3 x 10⁵/ratón, i.p.). La actividad de la enfermedad se controló una vez por semana durante las primeras 3 semanas y 3 veces por semana las siguientes semanas, en función del peso corporal, las heces blandas o diarrea, y el prolapso rectal. Los animales recibieron dosis orales día por medio (q.o.d.) con el artículo o vehículo de prueba desde el día de la transferencia de linfocitos T. Los ratones se sacrificaron 6 semanas después de la reconstitución de los linfocitos T y se analizaron para determinar la inflamación intestinal en función del examen histológico de los tejidos de colon teñidos con H&E. Todos los procedimientos donde hubo animales involucrados fueron evaluados y aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (*Institutional Animal Care Use Committee*).

El Ejemplo 2 se evaluó en el modelo de colitis inducida por la transferencia de linfocitos T en ratones descrito anteriormente, y los resultados se muestran en la Tabla 8. El compuesto de la presente invención, como se indicó en el Ejemplo 2, en el ensayo informado, mostró la inhibición de la progresión de la enfermedad, medida según la reducción de la pérdida de peso corporal o el aumento de peso corporal, y la reducción de la inflamación y del daño en el ensayo de colitis inducida por la transferencia de linfocitos T en ratones.

Tabla 8

Grupo	% de cambios en el peso corporal a las 6 semanas		Inflamación/daño (histológico)	
Vehículo	Media	100 % → 96,8%	Media	6,79
	SD	2,4%	SEM	0,36
Ejemplo 2 (1 mg/kg; q.o.d.)	Media	100 % → 98,7%	Media	5,46
	SD	1,5%	SEM	0,32
Ejemplo 2 (5 mg/kg; q.o.d.)	Media	100 % → 103,7%	Media	3,71
	SD	1,3%	SEM	0,50

- 25 Ensayo de modelo de ratón MRL/lpr de lupus eritematoso espontáneo

El ensayo de modelo de ratón MRL/lpr de lupus eritematoso espontáneo es un modelo animal de lupus eritematoso espontáneo.

- 30 Los ratones macho MRL/lpr (14 semanas de edad; Jackson Laboratories; n = 12-13) recibieron dosis orales del Ejemplo 2 (como una solución en vehículo) o del vehículo solo (polietilenglicol 300) dos veces por semana durante 11 semanas, desde el día 0. Los niveles de proteína en la orina (mediante Albustix) se midieron el día 0 y durante todo el estudio. La Tabla 9 indica el porcentaje de ratones en cada grupo de tratamiento que presentó niveles altos de proteinuria (superiores a 100 mg/dl) a las 25 semanas de edad. Otros grupos de ratones recibieron una dosis oral diaria de dexametasona (Dex) ya sea independientemente o en combinación con una dosis del Ejemplo 2 dos veces por semana. Los niveles de proteína en la orina (mediante Albustix) se midieron el día 0 y durante todo el estudio. La Tabla 9 indica el porcentaje de ratones en cada grupo de tratamiento que presentó niveles altos de proteinuria (superiores a 100 mg/dl) a las 24 semanas de edad. Todos los procedimientos donde hubo animales involucrados fueron evaluados y aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (*Institutional Animal Care Use Committee*).

El Ejemplo 2 se evaluó en el ensayo de modelo de ratón MRL/lpr de lupus eritematoso espontáneo descrito anteriormente, y los resultados se muestran en la Tabla 9. El compuesto de la presente invención, como se indicó en el Ejemplo 2, en el ensayo informado, mostró la inhibición de la progresión de la enfermedad, medida según un porcentaje más bajo de ratones con un nivel de proteinuria superior a 100 mg/dl.

Tabla 9

Proteinurea a las 25 semanas de edad	
Grupo	% de ratones con proteinurea >100 mg/dl
Vehículo	54
Ejemplo 2 (0,05 mg/kg; 2x semana)	25
Ejemplo 2 (0,4 mg/kg; 2x semana)	17
Ejemplo 2 (2 mg/kg; 2x semana)	10

El Ejemplo 2 y dexametasona (Dex.), ya sea independientemente o en combinación, se evaluaron en el ensayo de modelo de ratón MRL/lpr de lupus eritematoso espontáneo descrito anteriormente, y los resultados se muestran en la Tabla 10. Tanto el compuesto de la presente invención, como se indicó en el Ejemplo 2, y dexametasona en el ensayo informado, mostraron la inhibición de la progresión de la enfermedad, medida según un porcentaje más bajo de ratones con un nivel de proteinurea superior a 100 mg/dl. En esta prueba, ninguno de los ratones a los que se les administró el Ejemplo 2 y dexametasona presentaron un nivel de proteinurea superior a 100 mg/ml.

Tabla 10

Proteinurea a las 24 semanas de edad	
Grupo	% de ratones con proteinurea >100 mg/dl
Vehículo	64
Dex. (0,1 mg/kg q.d.)	50
Dex. (0,5 mg/kg q.d.)	10
Ejemplo 2 (2 mg/kg; 2x semana)	20
Ejemplo 2 (2 mg/kg; 2x semana) + Dex. (0,1 mg/kg q.d.)	0

Difractometría de rayos X de monocristales

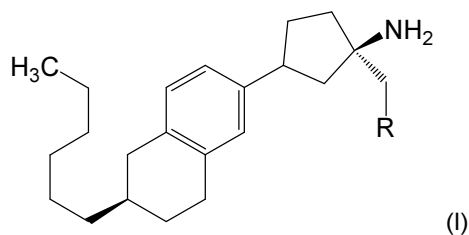
Se recolectaron datos de los monocristales en un sistema Bruker-AXS APEX2 CCD usando radiación Cu K α (λ = 1,5418 Å). El indexado y el procesamiento de los datos de intensidad medida se realizaron con el programa de software APEX2. Cuando se indica, los cristales se enfriaron en el flujo frío de un sistema criogénico Oxford durante la recolección de datos. Las estructuras se resolvieron mediante métodos directos y se refinaron sobre la base de las reflexiones observadas usando el programa SHELXTL. Los parámetros atómicos derivados (coordinadas y factores de temperatura) se refinaron mediante cuadrados mínimos de matriz completa. La función que se minimizó en los refinamientos fue $\sum_w (|F_o| - |F_c|)^2$. R se define como $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, mientras que $R_w = [\sum_w (|F_o| - |F_c|)^2 / \sum_w |F_o|^2]^{1/2}$, donde w es una función de pesaje adecuada basada en errores en las intensidades observadas. En general, todos los átomos que no son H se refinaron de manera anisotrópica, y todos los átomos H que no eran los que estaban unidos a los átomos N y O se calcularon mediante métodos geométricos y se refinaron con un modelo de cabalgata.

Difractometría de rayos X en polvo

Los datos de la difracción de polvo de rayos X (PXRD) se obtuvieron usando un goniómetro de plataforma chi manual Bruker GADDS (General Area Detector Diffraction System). Las muestras de polvo se colocaron en capilares de vidrio de paredes delgadas de 0,7 mm de diámetro; los capilares se rotaron durante la recolección de datos. La distancia entre la muestra y el detector se mantuvo a 17 cm. Los datos se recolectaron con radiación Cu K α (λ = 1,5418 Å) en el rango $2,5 < 2\theta < 35^\circ$ con un tiempo de exposición de la muestra de 600 segundos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula (I):

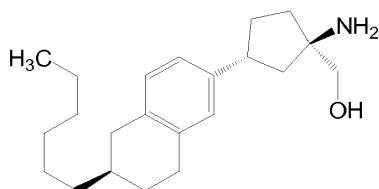


y/o una sal del mismo; en la que R es $-\text{OH}$ u $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$.

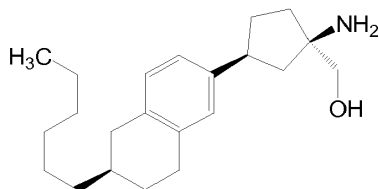
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, en el que R es $-\text{OH}$.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, en el que R es $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, que tiene la estructura:

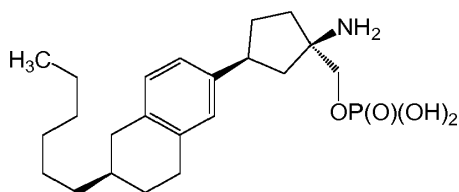


5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, que tiene la estructura:

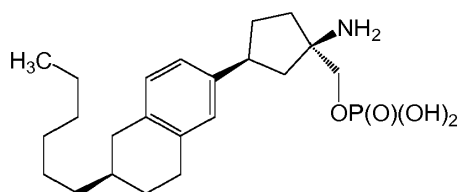


6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o una sal del mismo, en donde dicho compuesto o dicha sal son un sólido cristalino.

7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, que tiene la estructura:



8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, que tiene la estructura:



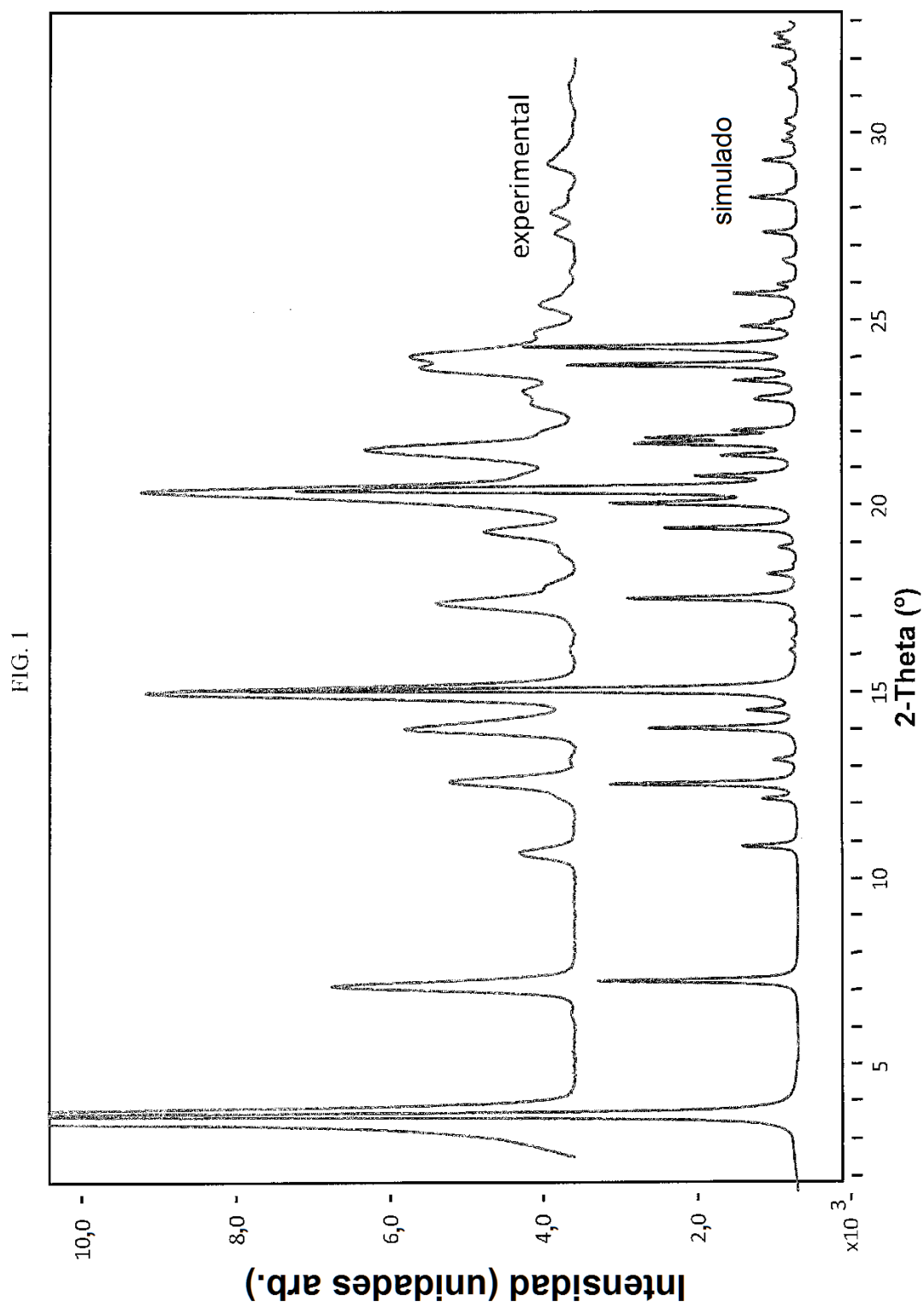
9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal del mismo, para su uso en terapia.

5 11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociados a la actividad del receptor S1P₁ acoplado a la proteína G.

10 12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria crónica.

15 13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dichas enfermedad autoinmunitaria o enfermedad inflamatoria crónica se seleccionan entre lupus, esclerosis múltiple, enfermedad intestinal inflamatoria y artritis reumatoide.



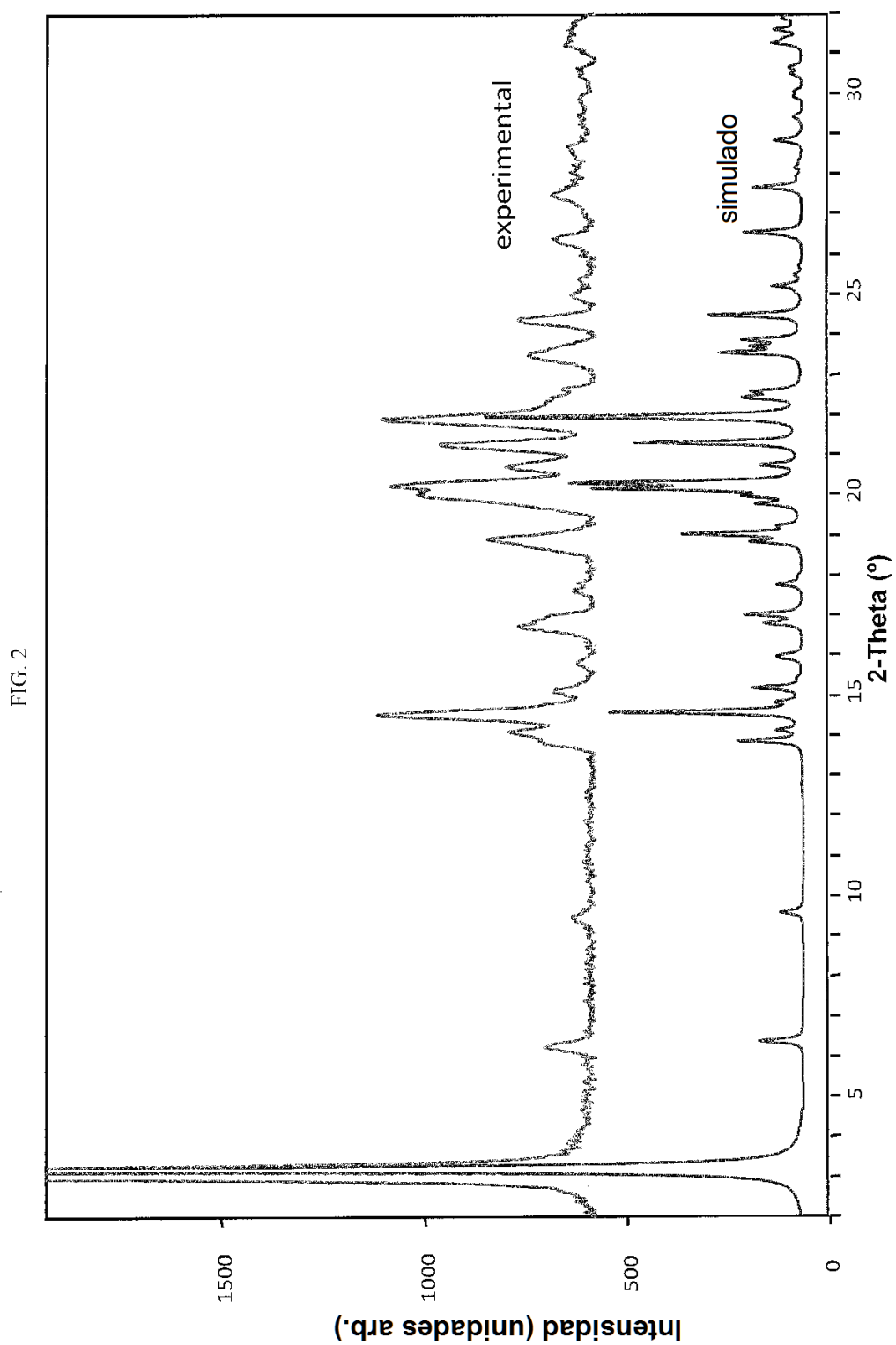


FIG. 3

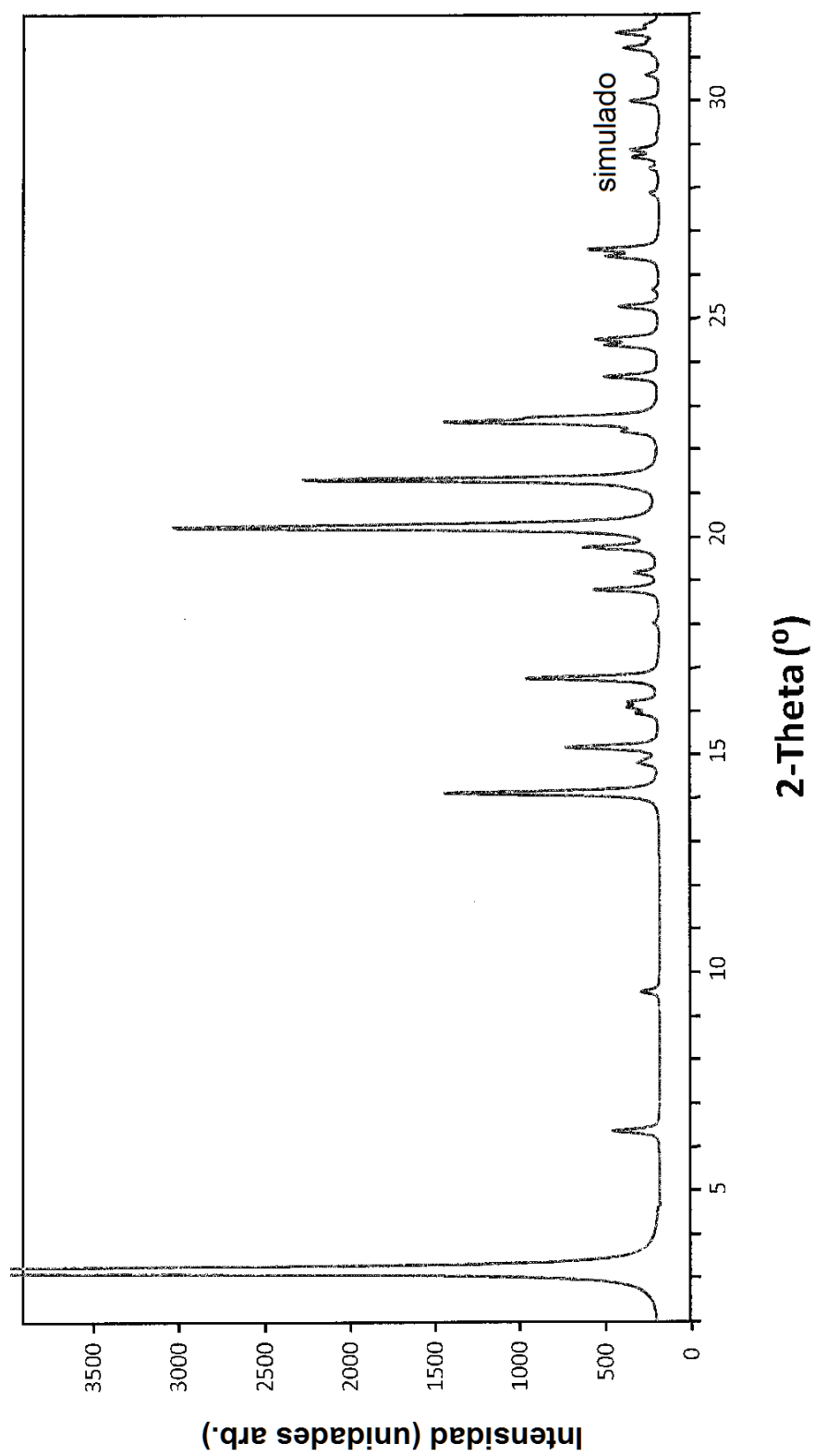


FIG. 4

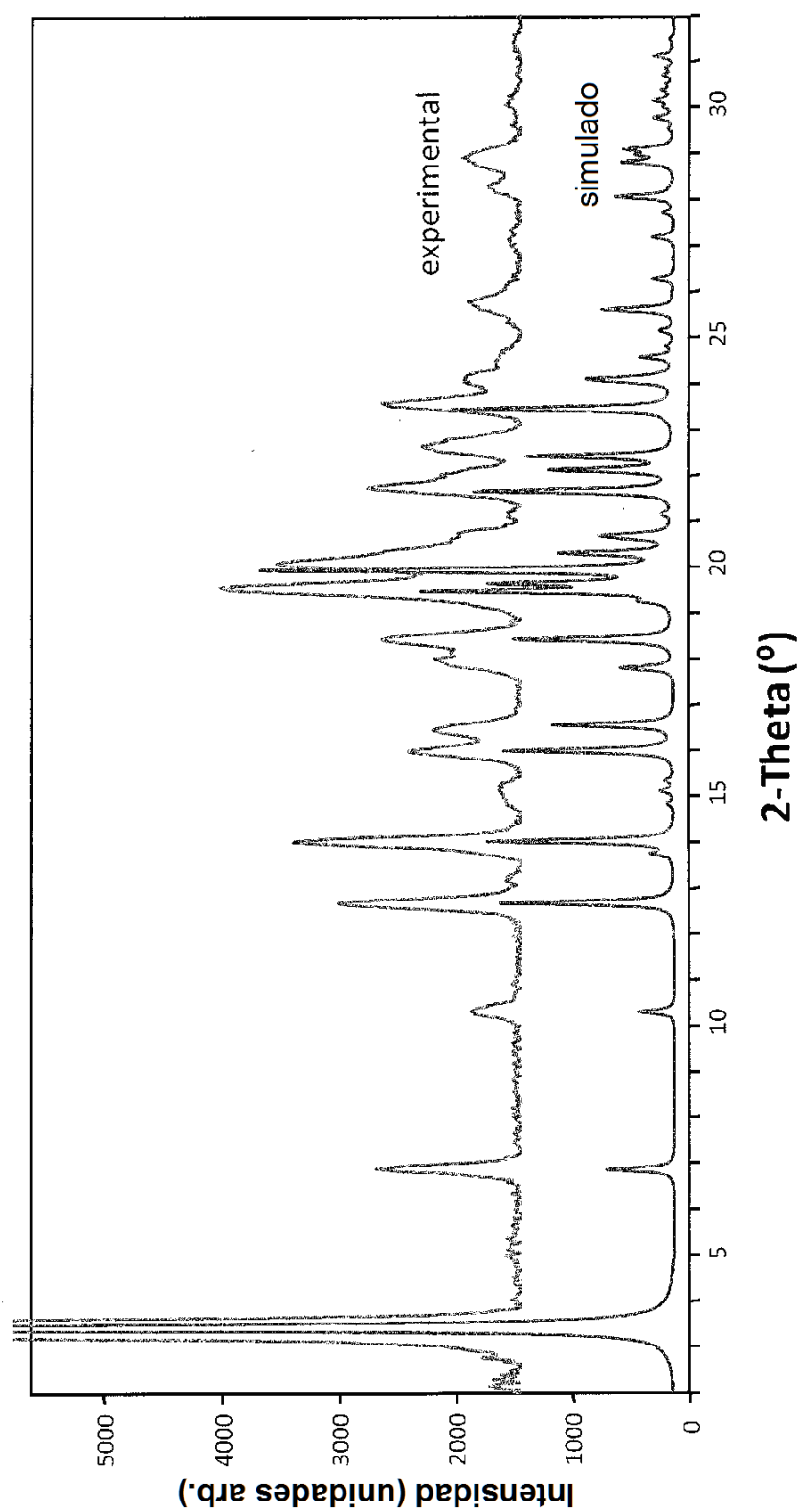


FIG. 5

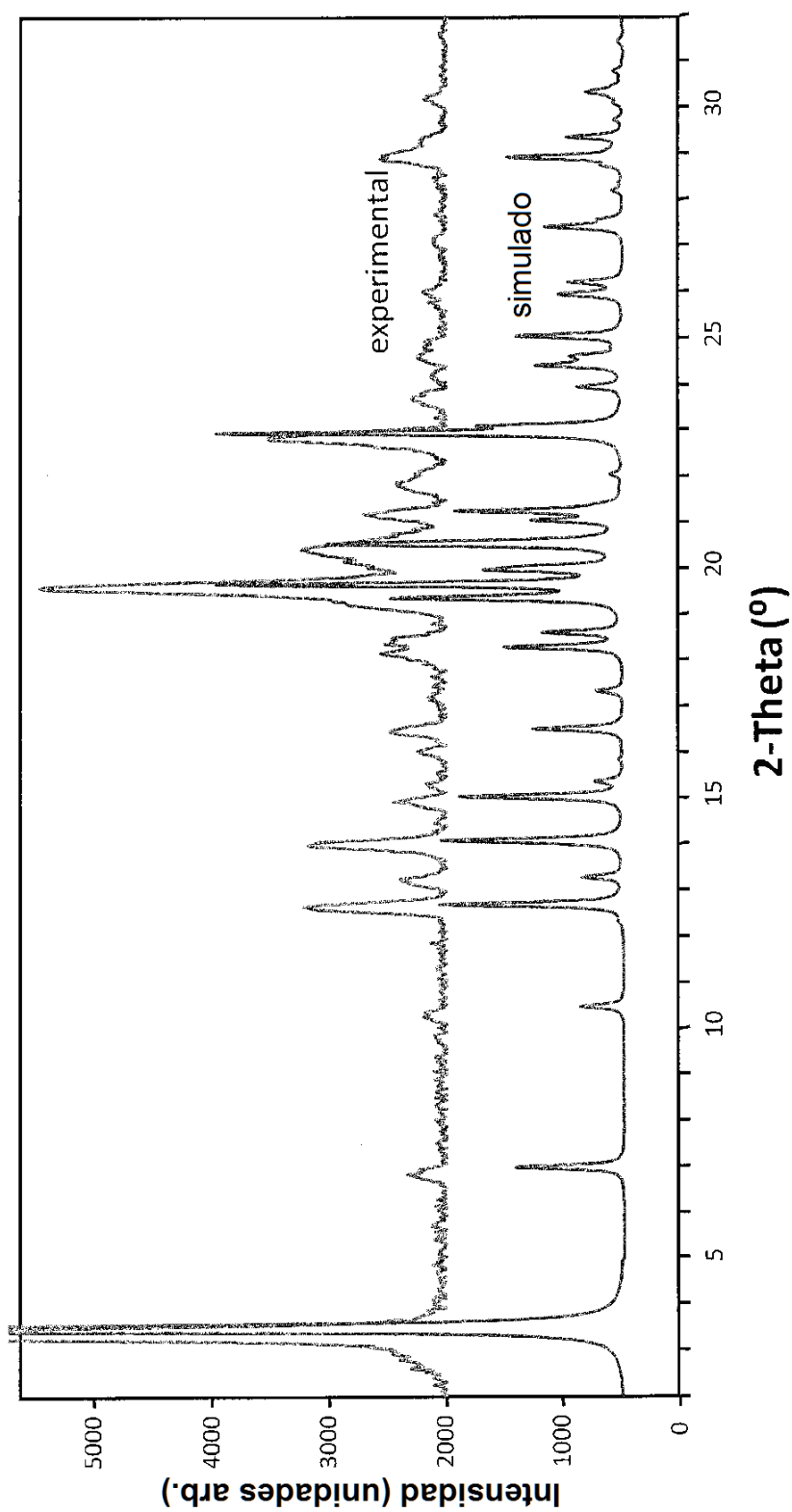


FIG. 6

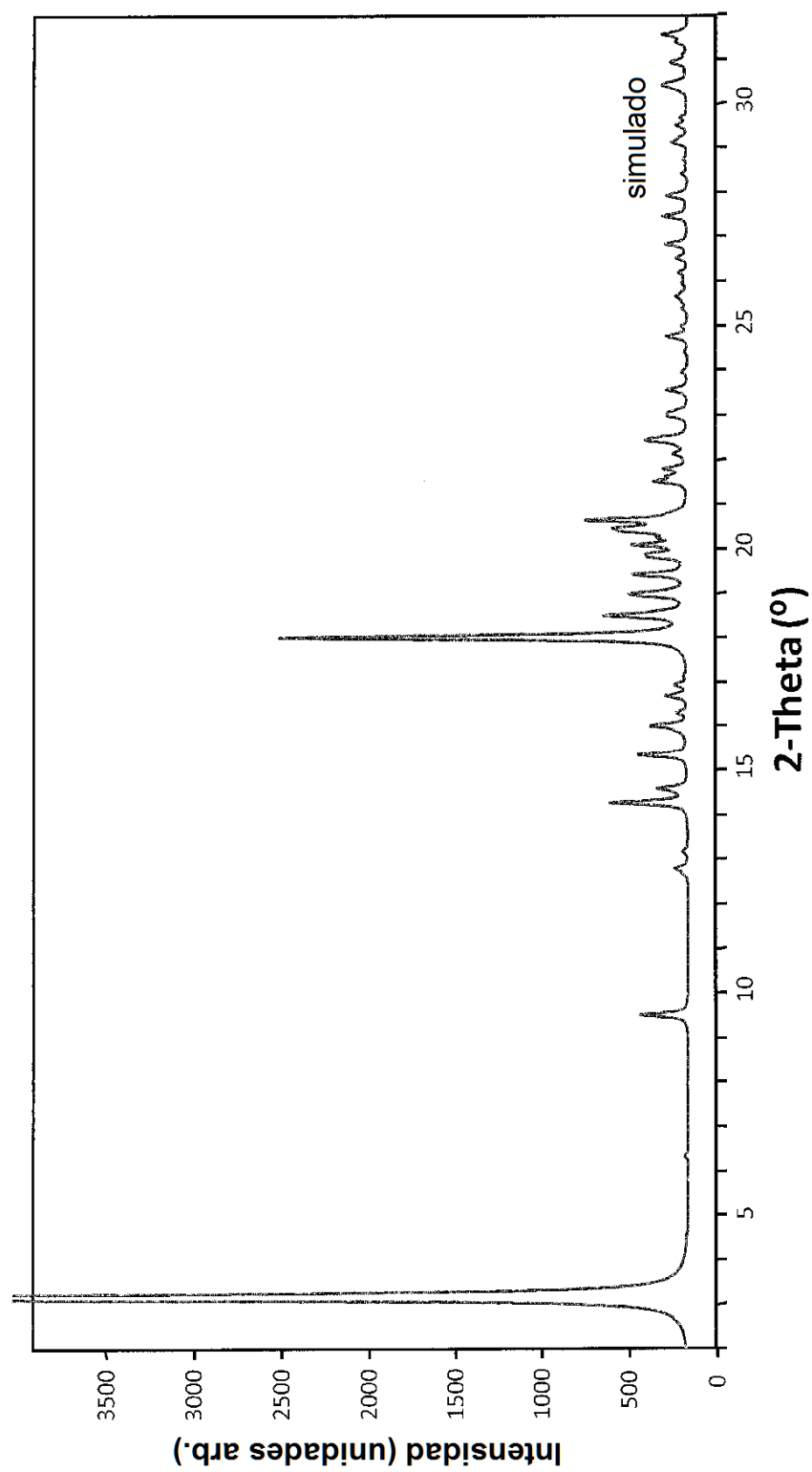


FIG. 7

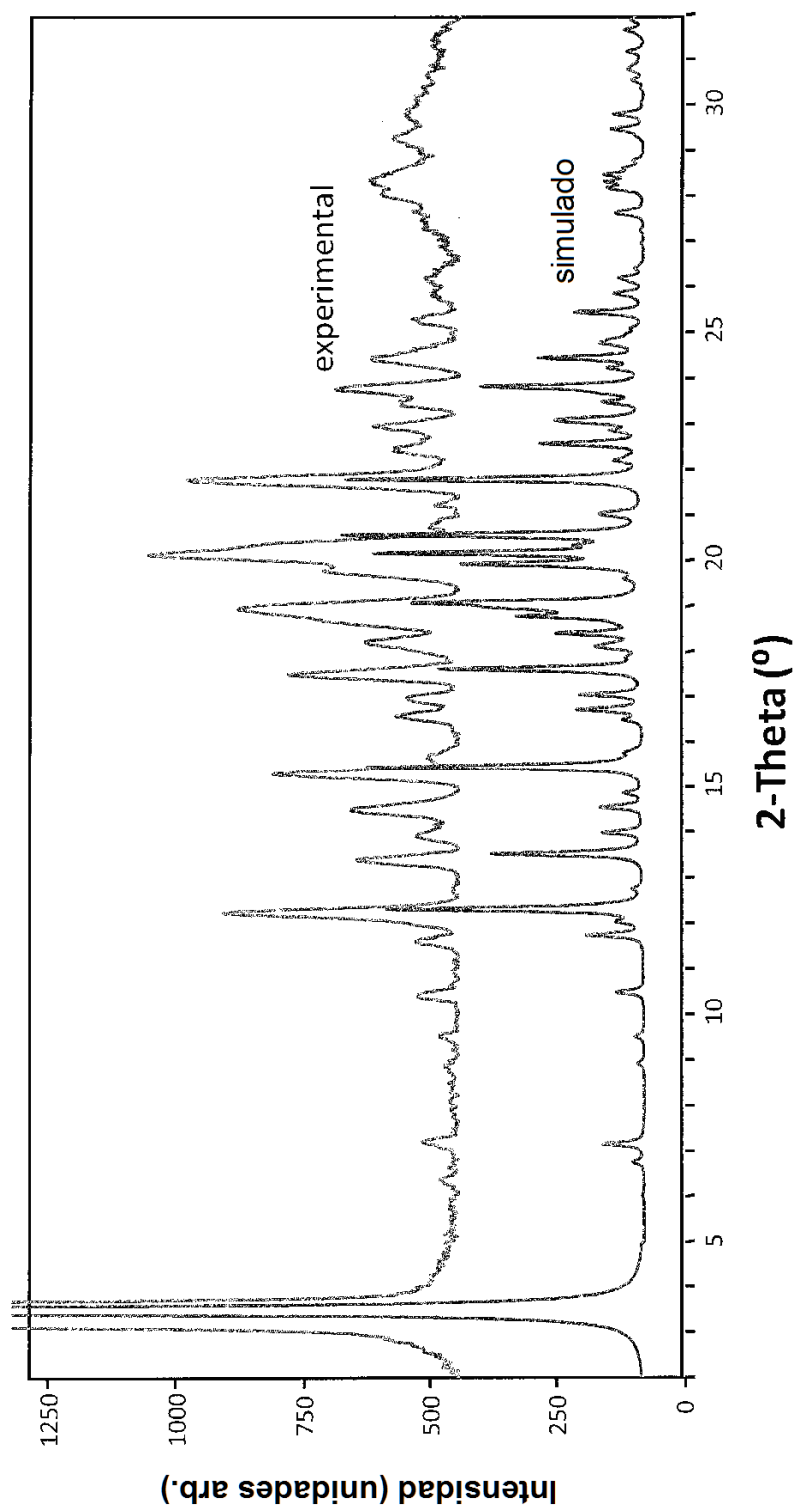


FIG. 8

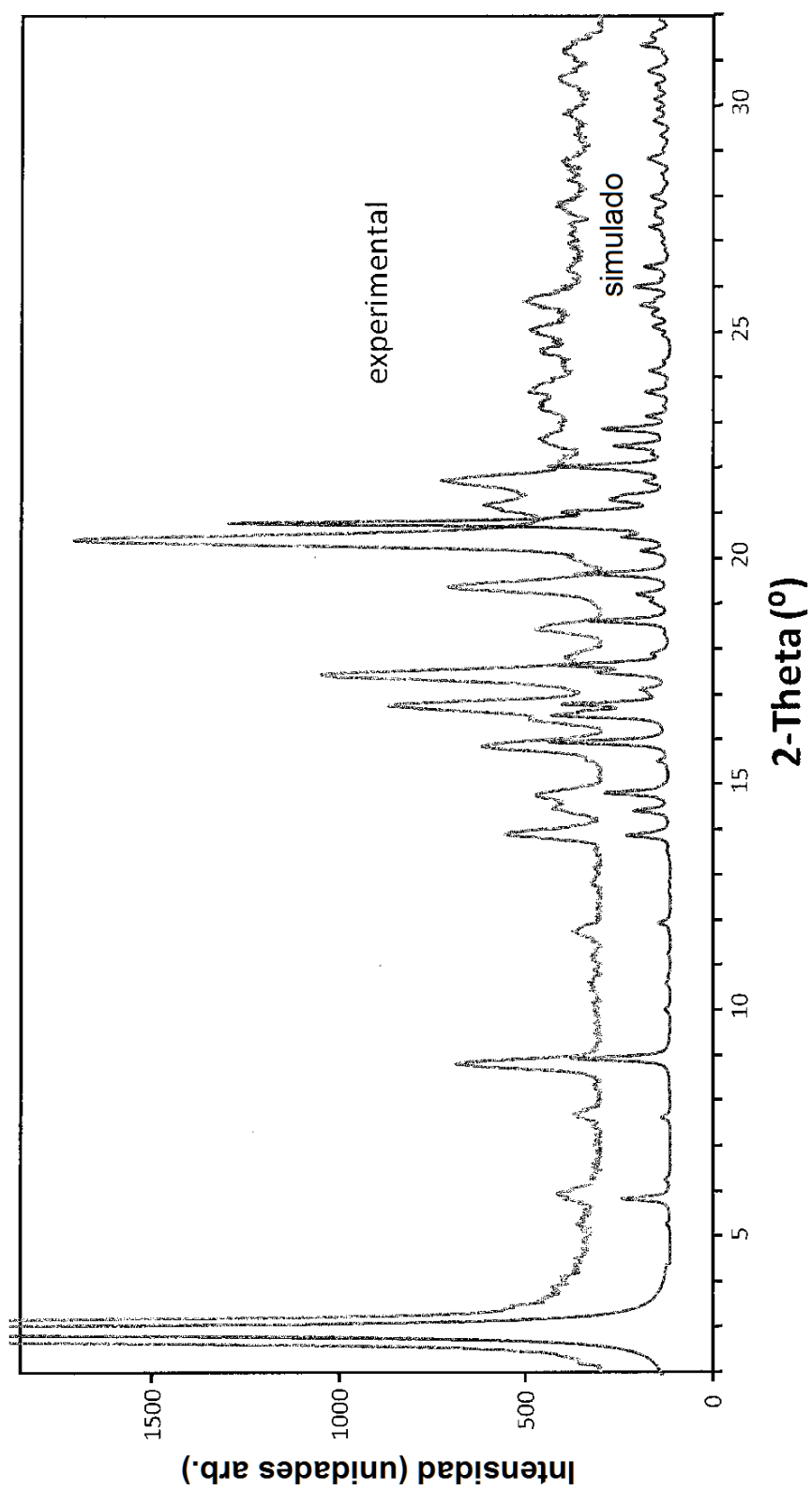


FIG. 9

