

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 690 748**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61K 31/4375** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.09.2015 PCT/EP2015/071776**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.2016 WO16046225**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.09.2015 E 15767475 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.09.2018 EP 3197892**

54 Título: **Derivados de naftiridina como antagonistas de integrina  $\alpha_v\beta_6$  para el tratamiento de enfermedades fibróticas entre otras**

30 Prioridad:

**26.09.2014 GB 201417002**

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

**22.11.2018**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY  
DEVELOPMENT LIMITED (100.0%)  
980 Great West Road  
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**ANDERSON, NIALL ANDREW;  
CAMPBELL-CRAWFORD, MATTHEW HOWARD  
JAMES;  
HANCOCK, ASHLEY PAUL;  
PRITCHARD, JOHN MARTIN y  
REDMOND, JOANNA MARY**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 690 748 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

Derivados de nafiridina como antagonistas de integrina  $\alpha_v\beta_6$  para el tratamiento de enfermedades fibróticas entre otras

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a compuestos de tiroidina que son antagonistas de integrina  $\alpha_v\beta_6$ , composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y a su uso en terapia, especialmente en el tratamiento de procesos para los que se indica el antagonista de  $\alpha_v\beta_6$  integrina, para el uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de procesos en que se indica un antagonista de integrina  $\alpha_v\beta_6$  y un método para el tratamiento o profilaxis de trastornos en que se indica el antagonismo de integrina  $\alpha_v\beta_6$  en un ser humano.

**Antecedentes de la invención**

10 Las proteínas de la superfamilia integrina son receptores heterodiméricos de la superficie celular, compuestos por una subunidad alfa y beta. Al menos se han presentado 18 subunidades alfa y 8 beta, que se ha demostrado que forman 24 heterodímeros alfa/beta distintos. Cada cadena comprende un gran dominio extracelular (>640 aminoácidos para la subunidad beta, >940 aminoácidos para la subunidad alfa), con una región que abarca la transmembrana de  
15 alrededor de 20 aminoácidos por cadena, y generalmente una corta cola citoplasmática de 30-50 aminoácidos por cadena. Se ha mostrado que diferentes integrinas participan en una plétora de biología celular, incluyendo la adhesión celular a la matriz extracelular, interacciones célula-célula, y efectos en la migración celular, proliferación, diferenciación y supervivencia (Barczyk et al, *Cell and Tissue Research*, **2010**, 339, 269).

Los receptores de integrina interactúan con las proteínas de unión por medio de interfases de unión proteína-proteína. La familia de integrinas puede agruparse en sub-familias que comparten motivos de reconocimiento de unión similares en dichos ligandos. Una subfamilia principal es la de RGD-integrinas, que reconocen ligandos que contienen un motivo RGD (arginina-glicina-ácido aspártico) en su secuencia de proteínas. Hay 8 integrinas en esta subfamilia, concretamente  $\alpha_v\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_v\beta_5$ ,  $\alpha_v\beta_6$ ,  $\alpha_v\beta_8$ ,  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_8\beta_1$ , donde la nomenclatura demuestra que  $\alpha_v\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_v\beta_5$ ,  $\alpha_v\beta_6$ , y  $\alpha_v\beta_8$  comparten una subunidad  $\alpha_v$  común con una subunidad  $\beta$  divergente, y  $\alpha_v\beta_1$ ,  $\alpha_5\beta_1$  y  $\alpha_8\beta_1$  comparten una subunidad  $\beta_1$  común con una subunidad  $\alpha$  divergente. La subunidad  $\beta_1$  se ha mostrado que se empareja con 11  
25 subunidades  $\alpha$  diferentes, de las cuales solo las 3 enumeradas anteriormente reconocen normalmente el motivo péptido RGD (Humphries et al, *Journal of Cell Science*, **2006**, 119, 3901).

Las 8 integrinas de unión a RGD tienen diferentes afinidades de unión y especificidades para diferentes ligandos que contienen RGD. Los ligandos incluyen proteínas tales como fibronectina, vitronectina, osteopontina y los péptidos asociados a latencia (LAPs) del Factor de Crecimiento de Transformación  $\beta_1$  y  $\beta_3$  (TGF $\beta_1$  y TGF $\beta_3$ ). La unión de integrina a los LAPs de TGF $\beta_1$  y TGF $\beta_3$  se ha mostrado en varios sistemas para permitir la activación de las actividades biológicas de TGF $\beta_1$  y TGF $\beta_3$ , y posteriores biología conducidas por TGF $\beta$  (Worthington et al, *Trends in Biochemical Sciences*, **2011**, 36, 47). La diversidad de dichos ligandos, acoplados con los patrones de expresión de integrinas de unión a RGD, genera múltiples oportunidades para la intervención de la enfermedad. Dichas enfermedades incluyen enfermedades fibróticas (Margadant, et al, *EMBO reports*, **2010**, 11, 97), trastornos inflamatorios, cáncer (Desgrosellier et al, *Nature Reviews Cancer*, **2010**, 10, 9), restenosis y otras enfermedades con un componente angiogénico (Weis et al, *Cold Spring. Harb. Perspect. Med.* **2011**, 1, a 006478).

Un significativo número de antagonistas de integrina  $\alpha_v$  (Goodman et al, *Trends in Pharmacological Sciences*, **2012**, 33, 405) se ha descrito en la bibliografía incluyendo anticuerpos inhibidores, péptidos y pequeñas moléculas. Para los anticuerpos estos incluyen los antagonistas pan- $\alpha_v$  Intetumumab y Abituzumab (Gras, *Drugs of the Future*, **2015**, 40, 97), el antagonista  $\alpha_v\beta_3$  selectivo Etaracizumab, y el antagonista  $\alpha_v\beta_6$  selectivo STX-100. La cilengtida es un antagonista de péptido cíclico que inhibe tanto  $\alpha_v\beta_3$  como  $\alpha_v\beta_5$  y SB-267268 es un ejemplo de un compuesto (Wilkinson-Berka et al, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **2006**, 47, 1600), que inhibe tanto  $\alpha_v\beta_3$  como  $\alpha_v\beta_5$ . La invención de compuestos que actúan como antagonistas de combinaciones diferentes de integrinas  $\alpha_v$  permite que se generen nuevos agentes adaptados para indicaciones de enfermedad específicas.

45 La fibrosis pulmonar representa la etapa final de varias enfermedades pulmonares intersticiales, que incluyen las neumonías intersticiales idiopáticas, y se caracteriza por la excesiva deposición de matriz extracelular en el intersticio pulmonar. Entre las neumonías intersticiales idiopáticas, la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) representa el proceso más común y más letal con una supervivencia típica de 3 a 5 años después del diagnóstico. La fibrosis en FPI es generalmente progresiva, refractaria a la intervención farmacológica habitual e inexorablemente lleva al fallo respiratorio debido a la erradicación de las unidades alveolares funcionales. La FPI afecta aproximadamente a 500.000 personas en los EE.UU. y Europa.

Hay datos de inmunohistoquímica experimental *in vitro*, animal y de pacientes de FPI para respaldar un papel clave de la integrina epitelialmente restringida,  $\alpha_v\beta_6$ , en la activación de TGF $\beta_1$ . La expresión de esta integrina es baja en tejidos epiteliales normales y está significativamente regulada a lo alto en epitelios lesionados e inflamados que incluye el epitelio activo en FPI. Dirigirse a esta integrina, por lo tanto, reduce la posibilidad teórica de interferir con los papeles homeostáticos de TGF $\beta$  más amplios. La inhibición parcial de la integrina  $\alpha_v\beta_6$  por bloqueo de anticuerpos se ha  
55 mostrado que evita la fibrosis pulmonar sin exacerbar la inflamación (Horan GS et al Partial inhibition of integrin  $\alpha_v\beta_6$  prevents pulmonary fibrosis without exacerbating inflammation. *Am J Respir Crit Med* **2008** 177: 56-65). Fuera de la

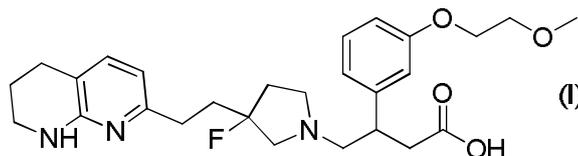
fibrosis pulmonar,  $\alpha_v\beta_6$  se considera también un promotor importante de enfermedad fibrótica de otros órganos, incluyendo hígado y riñón (Revisado en Henderson NC et al Integrin-mediated regulation of TGF $\beta$  in Fibrosis, *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease* **2013** 1832: 891-896), sugiriendo que un antagonista  $\alpha_v\beta_6$  podría ser efectivo en el tratamiento de enfermedades fibróticas en múltiples órganos.

- 5 Consecuente con la observación de que varias integrinas de unión a RGD pueden unirse a, y activar, TGF $\beta$ , diferentes integrinas  $\alpha_v$  se han implicado recientemente en la enfermedad fibrótica (Henderson NC et al Targeting of  $\alpha_v$  integrin identifies a core molecular pathway that regulates fibrosis in several organs *Nature Medicine* **2013** Vol. 19, número 12: 1617-1627; Sarrazy V et al Integrins  $\alpha_v\beta_5$  and  $\alpha_v\beta_3$  promote latent TGF- $\beta_1$  activation by human cardiac fibroblast contraction *Cardiovasc Res* **2014** 102:407-417; Minagawa S et al Selective targeting of TGF- $\beta$  activation to treat fibroinflammatory airway disease *Sci Transl Med* **2014** Vol. 6, Presentación 241: 1-14; Reed NI et al. The  $\alpha_v\beta_1$  integrin plays a critical *in vivo* role in tissue fibrosis *Sci Transl Med* **2015** Vol. 7, Presentación 288: 1-8). Por lo tanto los inhibidores frente a miembros específicos de las familias de integrina de unión a RGD, o con huellas de selectividad específica en la familia de integrinas de unión a RGD, pueden ser efectivos en el tratamiento de enfermedades fibróticas en múltiples órganos.
- 10 Las relaciones SAR de una serie de antagonistas de integrina frente a  $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_v\beta_5$ ,  $\alpha_v\beta_6$  y  $\alpha_v\beta_8$  se han descrito (Macdonald, SJF et al. Structure activity relationships of  $\alpha_v$  integrin antagonists for pulmonary fibrosis by variation in aryl substituents. *ACS MedChemLett* **2014**, 5, 1207-1212. 19 de sept. de 2014).

Es un objeto de la invención proporcionar inhibidores de  $\alpha_v\beta_6$ , preferiblemente con actividades contra otras integrinas  $\alpha_v$ , tales como  $\alpha_v\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_v\beta_5$  o  $\alpha_v\beta_8$ .

## 20 Breve exposición de la invención

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)-fenil)butanoico o una sal del mismo, más particularmente un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



- 25 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales tienen actividad antagonista  $\alpha_v\beta_6$  y se cree que son de uso potencial para el tratamiento o profilaxis de ciertos trastornos.

El término actividad antagonista de  $\alpha_v\beta_6$  incluye la actividad del inhibidor de  $\alpha_v\beta_6$  en esta memoria.

- 30 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

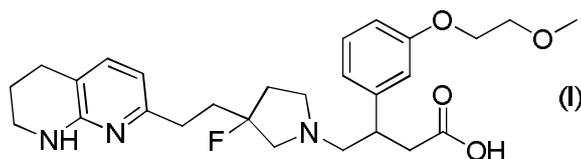
En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia, en particular en el tratamiento de una enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista del receptor de integrina  $\alpha_v\beta_6$ .

- 35 En un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto para uso en un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista del receptor de integrina  $\alpha_v\beta_6$  en un ser humano que lo necesita que comprende administrar a un ser humano que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 40 En un quinto aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista del receptor de integrina  $\alpha_v\beta_6$ .

## Descripción detallada de la invención

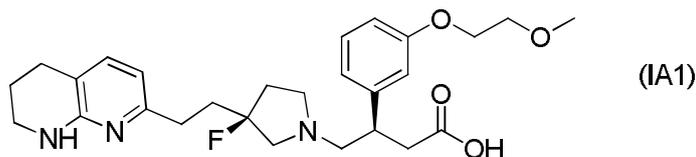
En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)-fenil)butanoico, o una sal del mismo, más particularmente un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



En otra realización el compuesto de Fórmula (I) es una sal farmacéuticamente aceptable de ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

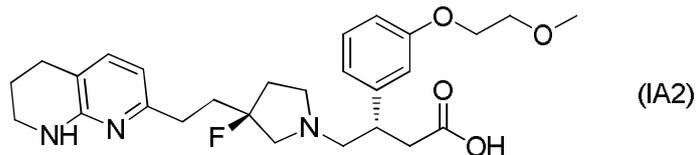
5 En otra realización el compuesto de Fórmula (I) es ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

En una realización el compuesto de fórmula (I) tiene la fórmula (IA1):



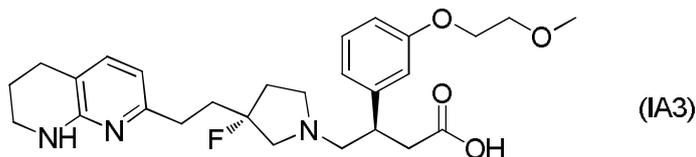
que es ácido (*R*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En una realización el compuesto de fórmula (I) tiene la fórmula (IA2):



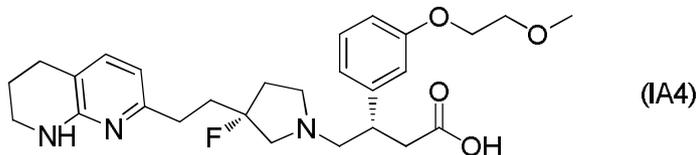
que es ácido (*S*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización el compuesto de fórmula (I) tiene la fórmula (IA3):



15 que es ácido (*R*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización el compuesto de fórmula (I) tiene la fórmula (IA4):



20 que es ácido (*S*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de Fórmula (I) o cualquiera de los compuestos IA1, IA2, IA3 o IA4 es una sal farmacéuticamente aceptable de ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

25 Los compuestos de fórmula (I) tienen tanto un grupo amino básico como un grupo ácido carboxílico y pueden en consecuencia formar una sal interna, es decir, un zwitterión o sal interna. Por lo tanto en una realización el compuesto de fórmula (I) es ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico o cualquiera de los compuestos IA1, IA2, IA3 o IA4 en una forma salina zwitteriónica. En otra realización, el compuesto de fórmula (I) es ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)-

pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico o cualquiera de los compuestos IA1, IA2, IA3 o IA4 en una forma no zwitteriónica.

5 Se apreciará que la presente invención cubre compuestos de fórmula (I), IA1, IA2, IA3 o IA4 como el compuesto parental, como un zwitterión (el compuesto parental está protonado de forma interna por su grupo ácido carboxílico y normalmente existe como un zwitterión) y como sales de los mismos, por ejemplo como una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Para una revisión en sales adecuadas véase Berge et al., *J. Pharm. Sci.*, **66**:1-19, (1977). Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas se enumeran en P H Stahl y C G Wermuth, editores, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, Weinheim/Zúrich: Wiley – VCH/VHCA, 2002. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de ácido con ácidos inorgánicos tales, por ejemplo, como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido ortofosfórico, ácido nítrico, ácido fosfórico o ácido sulfúrico, o con ácidos orgánicos tales, por ejemplo, como ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido málico, ácido succínico, ácido salicílico, ácido maleico, ácido glicerofosfórico, tartárico, benzoico, glutámico, aspártico, bencenosulfónico, naftalenosulfónico, tal como 2-naftalenosulfónico, ácido hexanoico o ácido acetilsalicílico, en particular, ácido maleico. Típicamente, una sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse fácilmente usando un ácido o base deseada como apropiada. La sal resultante puede precipitar de la disolución y puede recogerse por filtración o puede recuperarse por evaporación del disolvente.

20 Otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, formiatos, oxalatos o trifluoroacetatos, pueden usarse, por ejemplo en el aislamiento de los compuestos de fórmula (I), y se incluyen en el alcance de esta invención.

25 Una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable puede formarse por reacción de un compuesto de fórmula (I) con una base orgánica adecuada, (por ejemplo, trietilamina, etanolamina, trietanolamina, colina, arginina, lisina o histidina), opcionalmente en un disolvente adecuado, para dar la sal de adición de base que se aísla normalmente, por ejemplo, por cristalización y filtración. Sales de base inorgánica farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amonio, sales de metal alcalino tales como las de sodio y potasio, sales de metal alcalinotérreo tales como las de calcio y magnesio y sales con bases orgánicas, que incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitlohexilamina y N-metil-D-glucamina.

30 En una realización el compuesto de fórmula (I) está en la forma de compuesto parental, por ejemplo ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

30 La invención incluye en su alcance todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de las sales de los compuestos de fórmula (I).

35 Los compuestos de fórmula (I) pueden estar en forma cristalina o amorfa. Además, algunas de las formas cristalinas de los compuestos de fórmula (I) pueden existir como polimorfos, que se incluyen en el alcance de la presente invención. Las formas polimórficas de compuestos de fórmula (I) pueden caracterizarse y diferenciarse usando un número de técnicas analíticas convencionales, que incluyen, aunque no están limitadas a, patrones de difracción en polvo de rayos X (XRPD), espectros infrarrojos (IR), espectros Raman, calorimetría de barrido diferencial (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y resonancia magnética nuclear del estado sólido (SSNMR).

40 Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse también como una dispersión molecular amorfa en una matriz polimérica, tal como acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa, usando un procedimiento de dispersión seca por pulverizado (SDD) para mejorar la estabilidad y solubilidad de la sustancia del fármaco.

Los compuestos de fórmula (I) pueden también repartirse usando una tecnología de encapsulado líquido para mejorar propiedades tales como biodisponibilidad y estabilidad, en formatos tanto de cápsula dura como de cápsula de gelatina blanda rellenos de líquido o semi-sólido.

45 Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que se hacen reaccionar o desde los que se precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". Los disolventes con altos puntos de ebullición y/o capaces de formar enlaces de hidrógeno tales como agua, xileno, N-metilpirrolidinona, metanol y etanol pueden usarse para formar solvatos. Los métodos para la identificación de los solvatos incluyen, aunque no están limitados a, RMN y microanálisis. Se apreciará que las formas cristalinas opcionalmente pueden solvotarse para formar, por ejemplo, solvatos farmacéuticamente aceptables, tales como hidratos que pueden ser hidratos estequiométricos además de compuestos que contienen cantidades variables de agua. Los solvatos incluyen solvatos estequiométricos y solvatos no estequiométricos. Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en forma solvatada o no solvatada.

55 Los compuestos descritos en esta memoria contienen dos centros asimétricos de manera que pueden formarse isómeros ópticos, por ejemplo, diastereoisómeros y enantiómeros. Por consiguiente, la presente invención abarca isómeros de los compuestos de fórmula (I) tanto como isómeros individuales aislados de manera que están sustancialmente libres del otro isómero (es decir puro) o como mezclas. Un isómero individual aislado de manera que está sustancialmente libre del otro isómero (es decir puro) puede aislarse de manera que menos del 10%,

particularmente menos que aproximadamente 1%, por ejemplo menos que aproximadamente 0,1% del otro isómero está presente.

Se entenderá por los expertos en la técnica que ciertos diastereoisómeros pueden ser menos activos que otros y que la actividad de un diastereoisómero individual puede caer por debajo de un límite seleccionado.

- 5 La separación de isómeros puede conseguirse por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, por cristalización fraccionada, cromatografía, HPLC o una combinación de estas técnicas.

Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en una de varias formas tautoméricas. Se entenderá que la presente invención abarca todos los tautómeros de los compuestos de fórmula (I) tanto como tautómeros individuales o como mezclas de los mismos.

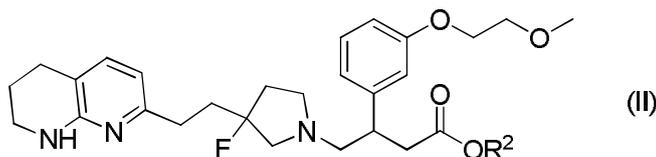
- 10 Se apreciará a partir de lo anterior que se incluyen en el alcance de la invención los solvatos, isómeros y formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

Preparación del compuesto

- 15 Los compuestos de la invención pueden hacerse por una variedad de métodos, que incluyen química estándar. Cualquier variable definida anteriormente continuará teniendo el significado definido anteriormente a menos que se indique otra cosa. Los métodos sintéticos generales ilustrativos se presentan a continuación y después se preparan compuestos específicos de la invención en los Ejemplos de trabajo.

Se apreciará por los expertos en la técnica que la descripción (*E*) o (*Z*) de algunos compuestos intermedios que pueden existir en dos isómeros geométricos, puede contener el otro isómero geométrico como un componente minoritario.

- 20 Los compuestos de fórmula estructural (I) pueden prepararse mediante un procedimiento que implica primero la desprotección de un compuesto de fórmula estructural (II), es decir, la escisión del grupo éster, seguido opcionalmente por la conversión a una sal:



donde R<sup>2</sup> es un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> por ejemplo un grupo *tert*-butilo, etilo o metilo. De forma alternativa R<sup>2</sup> es un alquilo quiral por ejemplo (-)-mentilo [(1*R*,2*S*,5*R*)-2-isopropil-5-metilciclohexanol].

- 25 Un sexto aspecto de la invención proporciona un compuesto de fórmula (II).

La desprotección del compuesto de la fórmula estructural (II) donde R<sup>2</sup> es metilo, etilo, un alquilo quiral tal como mentilo o *tert*-Bu puede conseguirse por hidrólisis ácida usando por ejemplo ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico o trifluoroacético, en un disolvente inerte, tal como diclorometano, 2-metil-tetrahydrofurano, tetrahydrofurano, 1,4-dioxano o ciclopentilmetiléter o agua.

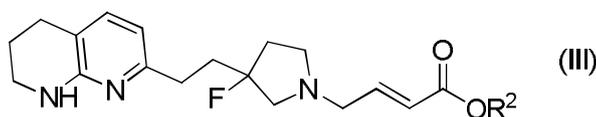
- 30 De forma alternativa la desprotección del compuesto de fórmula estructural (II) donde R<sup>2</sup> es metilo, etilo o un alquilo quiral tal como mentilo puede conseguirse por hidrólisis básica usando por ejemplo hidróxido de litio, hidróxido sódico, hidróxido de potasio en un disolvente adecuado, por ejemplo, un disolvente acuoso tal como metanol acuoso.

Después de la escisión del grupo éster el producto resultante puede convertirse a la sal necesaria por métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.

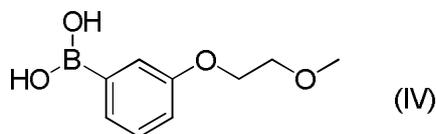
- 35 En una realización la conversión del zwitterión a la sal de hidrocloreto se consigue por tratamiento de una disolución del zwitterión en un disolvente orgánico inerte tal como acetonitrilo o acetona con una disolución de ácido clorhídrico acuoso, concentración de la disolución de sal resultante y cristalización a partir de acetonitrilo.

- 40 En una realización la conversión del zwitterión a la sal de maleato se alcanza por tratamiento de una disolución de acetonitrilo del zwitterión con una disolución acuosa de ácido maleico, calentando la disolución resultante a 40°C y permitiendo enfriar a 5°C para que ocurra la cristalización.

Los compuestos de fórmula estructural (II) pueden obtenerse a partir de compuestos de fórmula estructural (III):



donde  $R^2$  es como se define anteriormente, por reacción con un compuesto de ácido borónico de fórmula estructural (IV):



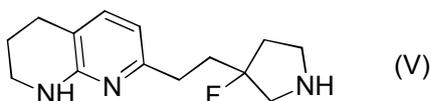
De forma alternativa puede usarse un éster de boronato, tal como éster de pinacol, que proporciona el ácido borónico parental *in situ*. Los compuestos de fórmula estructural (IV) están disponibles comercialmente por ejemplo de Enamine LLC, Princeton Corporate Plaza, 7 Deer Park Drive Ste. 17-3, Monmouth Jct. NJ (EE.UU.) 08852, Manchester Organics o Fluorochem. La reacción entre el compuesto de fórmulas estructurales (III) y (IV) puede realizarse en presencia de un catalizador adecuado, tal como catalizador de rodio, por ejemplo el dímero de (1,5-ciclooctadieno) cloruro de rodio,  $[Rh(COD)Cl]_2$  y un aditivo tal como un ligando de fosfina, por ejemplo bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftilo (BINAP), preferiblemente en presencia de una base, tal como hidróxido de potasio acuoso, a temperatura elevada, tal como 50-90°C, y un disolvente miscible en agua, tal como 1,4-dioxano. La reacción se realiza preferiblemente bajo condiciones estrictamente anaeróbicas, donde la mezcla de reacción se purga con un gas inerte tal como nitrógeno, y se evacua a presión reducida, repitiendo este procedimiento de evacuación y purgando con nitrógeno tres veces. Esta reacción produce una mezcla de isómeros, normalmente en la relación de 1:1. La mezcla de isómeros producida puede separarse por cromatografía, HPLC o por cristalización. Una síntesis asimétrica puede alcanzarse por inclusión de un enantiómero del ligando quiral 2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftilo ("BINAP") en presencia de un catalizador basado en un compuesto de rodio. La geometría del doble enlace en el compuesto de fórmula estructural (III) puede ser (E) o mezcla de isómeros (E) y (Z), preferiblemente isómero (E) puro.

La reacción entre un enantiómero de un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV) produce dos diastereoisómeros en una relación de aproximadamente 1:1, que pueden separarse por cristalización, cromatografía o por HPLC. Un método preferido de separación es HPLC quiral en un soporte quiral, tal como columnas Chiralpak o Chiralcel. La relación de los diastereoisómeros formados puede aumentarse sustancialmente a por ejemplo aproximadamente 80:20 o más, en presencia de aproximadamente 10% de aditivos, tal como (*R*)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftaleno [(*R*)-BINAP], que proporciona como el isómero principal el diastereoisómeros biológicamente más activo.

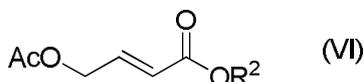
De forma alternativa, varias combinaciones de compuesto (III) con diferentes grupos  $R^2$  quirales, ligando, ácido borónico (IV), catalizador y disolvente seleccionados por los expertos en la técnica o cribando grandes números de combinaciones puede proporcionar una alta relación de diastereoisómeros.

La relación diastereoisomérica puede aumentarse además, por ejemplo, a más de 99:1, por HPLC quiral o por cristalización.

Los compuestos de fórmula estructural (III) pueden obtenerse a partir de compuestos de fórmula estructural (V):



por reacción con un compuesto de fórmula estructural (VI)

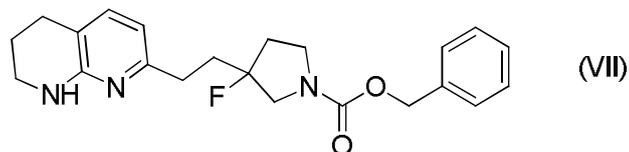


donde  $R^2$  es como se define anteriormente, en presencia de una base orgánica tal como N,N-diisopropiletilamina ("DIPEA") y un catalizador con base de paladio adecuado, por ejemplo  $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$  [1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano, en un disolvente tal como diclorometano. El compuesto de fórmula (V) puede usarse como el compuesto parental, o puede generarse *in situ* desde una sal, tal como la sal de dihidrocloruro, en presencia de una base de amina terciaria.

Los compuestos de fórmula estructural (VI) pueden prepararse por métodos descritos en esta memoria. Por medio de la ilustración del compuesto de fórmula estructural (VI), donde  $R^2$  es metilo, y el doble enlace que tiene la geometría (E), puede prepararse por el método mostrado a continuación, empezando desde el 4-bromocrotonato de metilo disponible comercialmente y acetato de sodio o potasio en acetonitrilo a temperatura elevada por ejemplo 50°C:

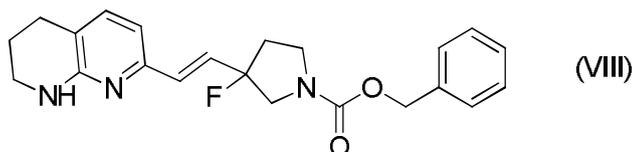


Los compuestos de fórmula estructural (V) pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula estructural (VII):



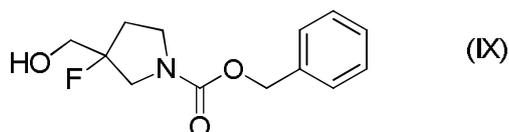
por hidrogenolisis catalítica por ejemplo usando un catalizador de paladio depositado en carbono, en un disolvente inerte, tal como etanol o acetato de etilo.

5 Los compuestos de fórmula estructural (VII) pueden obtenerse a partir de compuestos de fórmula estructural (VIII):

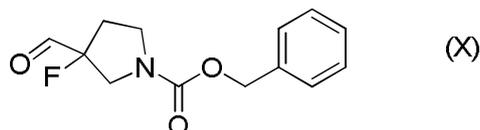


por reducción de diimida, generada por ejemplo a partir de bencenosulfonilhidrazida en presencia de una base, tal como carbonato de potasio, en un disolvente adecuado, tal como DMF, a una temperatura elevada, tal como 130°C.

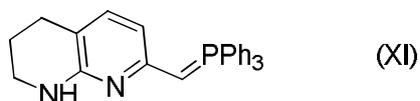
10 Los compuestos de fórmula estructural (VIII) existen como isómeros geométricos por ejemplo forma (E) o (Z) y pueden usarse o bien como isómeros puros o como mezclas. Los compuestos de fórmula estructural (VIII) pueden obtenerse partiendo de compuestos conocidos comercialmente disponibles (por ejemplo, de Wuxi App Tec, 288 Fute Zhong Road, Waigaoqiao Free Trade, Shanghai 200131, China) de fórmula estructural (IX):



15 que puede oxidarse por ejemplo, con trióxido de azufre en piridina al correspondiente aldehído de fórmula estructural (X):



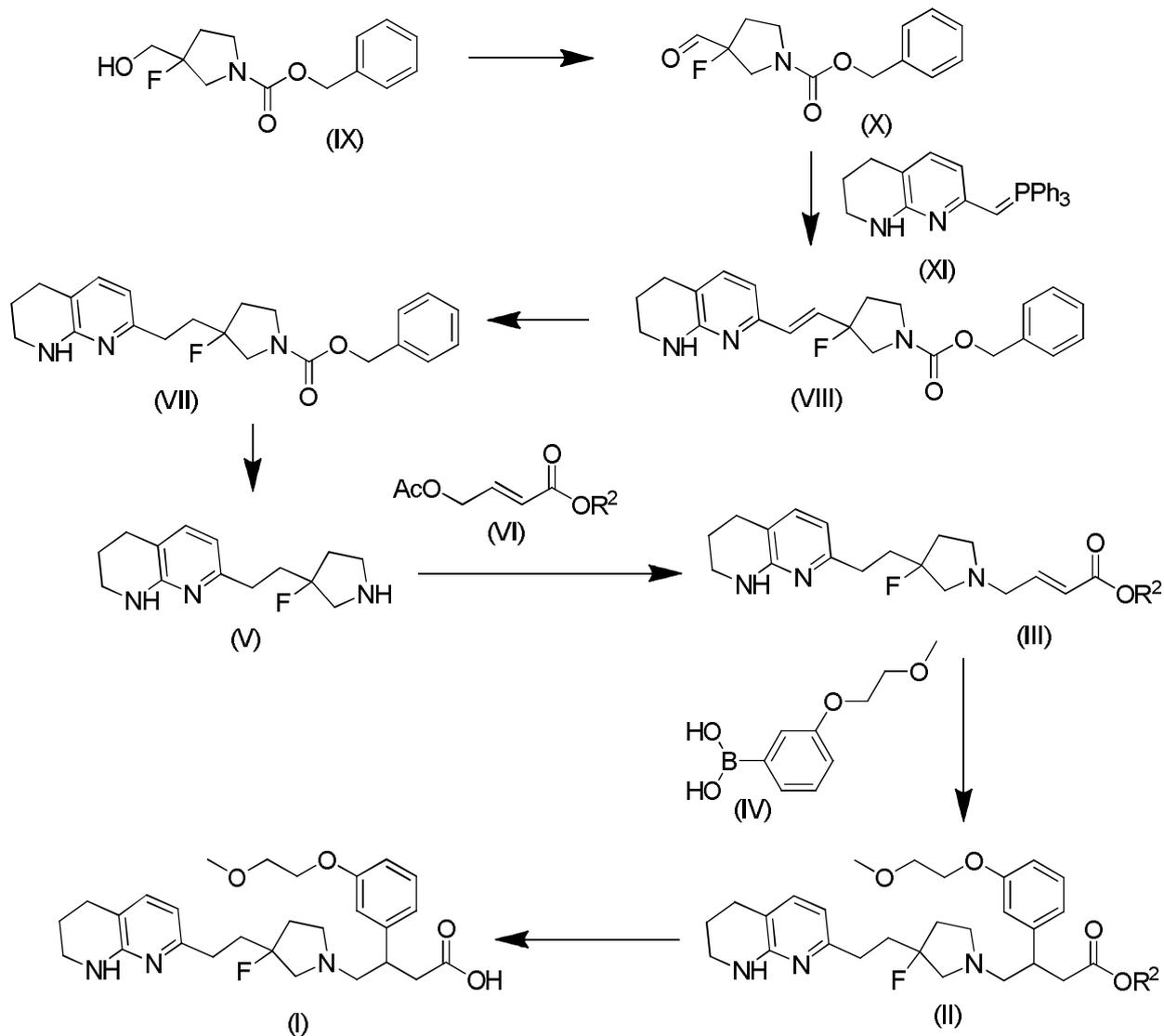
Este compuesto de fórmula estructural (X) puede entonces hacerse reaccionar, lo que puede ser sin aislamiento del compuesto de fórmula (X), con una ilida de fórmula estructural (XI):



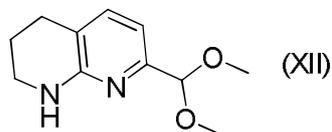
20 para así formar el compuesto de fórmula (VIII) que existe como una mezcla de isómeros geométricos (E) y (Z). Se apreciará por los expertos en la técnica que hay otros métodos para formar el compuesto de fórmula (VIII) desde el aldehído (X). Los isómeros geométricos pueden separarse por cromatografía o usarse en la siguiente etapa como una mezcla. Este esquema total para la preparación de compuestos de fórmula estructural (I) se resume a continuación como Esquema (I):

25

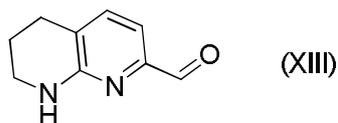
Esquema (I)



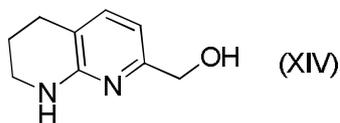
La ilida de fórmula estructural (XI) puede hacerse partiendo del compuesto de fórmula (XII) (disponible de Fluorochem):



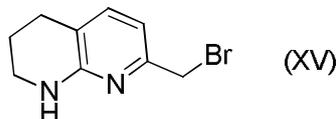
- 5 que por reacción primero con ácido clorhídrico seguido por neutralización con bicarbonato sódico puede entonces convertirse en un aldehído de fórmula estructural (XIII):



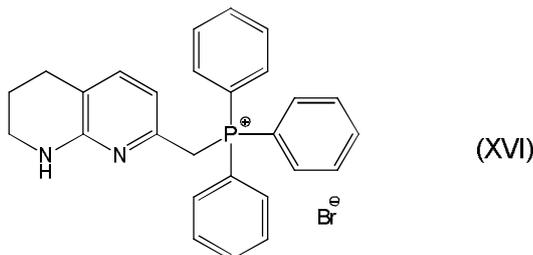
que puede reducirse por ejemplo usando borohidruro sódico al correspondiente alcohol de fórmula estructural (XIV):



(véanse también las rutas descritas en el documento US-A-20040092538 para la preparación de alcoholes de fórmula (XIV)) que pueden bromarse después por ejemplo usando tribromuro de fósforo para producir el correspondiente compuesto de bromo de fórmula estructural (XV):



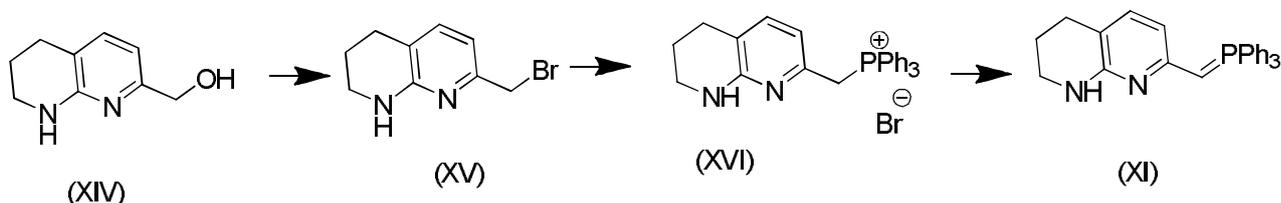
- 5 que puede convertirse al bromuro de trifenilfosfonio (XVI) haciéndolo reaccionar con trifenilfosfina en un disolvente tal como acetonitrilo.



- 10 El compuesto ilida mencionado anteriormente de fórmula estructural (XI) puede obtenerse por reacción del compuesto de fórmula estructural (XVI) con una base, tal como una disolución de *tert*-butóxido de potasio en un disolvente inerte, tal como THF. La ilida de fórmula estructural (XI) puede aislarse o formarse preferiblemente *in situ* y hacerse reaccionar en el mismo recipiente con un aldehído de fórmula estructural (X) sin aislamiento previo.

Este esquema global para la preparación de la ilida de fórmula estructural (XI) se resume a continuación en el Esquema (II):

Esquema (II)



- 15 Cada uno de los dos enantiómeros comercialmente disponibles de compuesto de fórmula (IX) proporciona un diastereoisómero principal de compuesto de fórmula (I) que es más potente que el menor correspondiente.

- 20 Se apreciará que en cualquiera de las rutas descritas anteriormente puede ser ventajoso para proteger uno o más grupos funcionales. Ejemplos de grupos protectores y los medios para su eliminación pueden encontrarse en T. W. Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (3ª edición, J. Wiley and Sons, 1999). Grupos protectores de amina adecuados incluyen acilo (por ejemplo, acetilo), carbamato (por ejemplo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o *t*-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo, bencilo), que puede eliminarse por hidrólisis (por ejemplo usando un ácido tal como ácido clorhídrico en dioxano o ácido trifluoroacético en diclorometano) o de forma reductora (por ejemplo, hidrogenólisis de un grupo bencilo o benciloxicarbonilo o eliminación reductora de un grupo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo usando zinc en ácido acético) como sea apropiado. Otros grupos protectores de amina adecuados incluyen trifluoroacetilo (-COCF<sub>3</sub>) que pueden eliminarse por hidrólisis catalizada por base.

Se apreciará que en cualquiera de las rutas descritas anteriormente, el orden preciso de las etapas sintéticas por las que los diversos grupos y restos se introducen en la molécula puede variarse. Estará en las capacidades del práctico en la técnica asegurar que grupos o restos introducidos en una etapa del procedimiento no estarán afectados por posteriores transformaciones y reacciones, y para seleccionar el orden de las etapas sintéticas por consiguiente.

- 30 Los compuestos de fórmulas (III), (V) a (VIII), (X), (XI), (XV) y (XVI) se cree que también son nuevos y por lo tanto forman un aspecto aún adicional de la invención.

La configuración absoluta de compuestos de fórmula (I) puede obtenerse después de una síntesis enantioselectiva independiente a partir de un intermedio de configuración absoluta conocida. De forma alternativa un compuesto enantioméricamente puro de fórmula (I) puede convertirse en un compuesto cuya configuración absoluta se conoce.

- 35 En cualquier caso la comparación de datos espectroscópicos, rotación óptica y tiempos de retención en una columna HPLC analítica pueden usarse para confirmar la configuración absoluta. Una tercera opción donde sea factible es la determinación de la configuración absoluta a través de cristalografía de rayos X.

## Métodos de uso

Los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos se cree que tienen actividad antagonista integrina  $\alpha_v$ , particularmente actividad del receptor  $\alpha_v\beta_6$ , así tienen utilidad potencial en el tratamiento de enfermedades o procesos para los que está indicado un antagonista  $\alpha_v\beta_6$ .

- 5 La presente invención proporciona así un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia. El compuesto de fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser para el uso en el tratamiento de una enfermedad o proceso para la que está indicado un antagonista de integrina  $\alpha_v\beta_6$ .

La presente invención proporciona así un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso en el tratamiento de una enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista de integrina  $\alpha_v\beta_6$ .

- 10 También se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista de integrina  $\alpha_v\beta_6$ .

También se proporciona un compuesto para uso en un método para tratar una enfermedad o procesos para los que está indicado un antagonista de integrina  $\alpha_v\beta_6$  en un sujeto que lo necesita que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15

Adecuadamente el sujeto que lo necesita es un mamífero, particularmente un ser humano.

Como se usa en esta memoria, el término "cantidad efectiva" significa la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que obtendrá la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que se está viendo, por ejemplo, por un investigador o médico. Además, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da por resultado tratamiento mejorado, curación, prevención o mejora de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución en la velocidad del avance de una enfermedad o trastorno. El término también incluye en su alcance cantidades efectivas para mejorar la función fisiológica normal.

- 20

Las enfermedades fibróticas implican la formación de tejido conectivo fibroso en exceso en un órgano o tejido en un procedimiento reparador o reactivo. Se cree que los antagonistas  $\alpha_v\beta_6$  son útiles en el tratamiento de una variedad de dichas enfermedades o procesos que incluyen los dependientes de la función de integrina  $\alpha_v\beta_6$  y de la activación de factor de crecimiento de transformación beta por medio de integrinas alfa v. Las enfermedades pueden incluir aunque no están limitadas a fibrosis pulmonar (por ejemplo, fibrosis pulmonar idiopática, neumonía intersticial no específica (NINE), neumonía intersticial usual (NIU), síndrome de Hermansky-Pudlak, fibrosis masiva progresiva (una complicación de la neumoconiosis de los trabajadores del carbón), fibrosis pulmonar relacionada con la enfermedad del tejido conectivo, fibrosis de las vías aéreas en asma y EPOC, fibrosis asociada con SDRA, lesión pulmonar aguda, fibrosis inducida por radiación, fibrosis pulmonar familiar, hipertensión pulmonar); fibrosis renal (nefropatía diabética, nefropatía por IgA, nefritis por lupus, glomeruloesclerosis segmentada focal (GESF), nefropatía por trasplante, nefropatía autoinmune, nefropatía inducida por fármacos, nefropatía relacionada con hipertensión, fibrosis sistémica nefrogénica); fibrosis hepática (fibrosis inducida viralmente (por ejemplo hepatitis C o B), hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, enfermedad hepática alcohólica, enfermedad de hígado graso no alcohólico que incluye esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), fibrosis hepática congénita, colangitis esclerosante primaria, hepatitis inducida por fármacos, cirrosis hepática); fibrosis dérmica (cicatrices hipertróficas, escleroderma, queloides, dermatomiositis, fascitis eosinófila, contractura de Dupuytren, síndrome de Ehlers-Danlos, enfermedad de Peyronie, epidermolísis bullosa distrófica, fibrosis submucosa oral); fibrosis ocular (degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), edema macular diabético, ojo seco, glaucoma), cicatrización de la córnea, lesión de la córnea y curación de herida en la córnea, prevención de cicatrización de ampolla de filtración posterior a la cirugía de trabeculectomía; fibrosis cardíaca (fallo cardíaco congestivo, aterosclerosis, infarto de miocardio, fibrosis endomiocardiaca, cardiomiopatía hipertrófica (CMH)) y otros procesos fibróticos diversos (fibrosis mediastinal, mielofibrosis, fibrosis retroperitoneal, enfermedad de Crohn, neurofibromatosis, leiomiomas uterinos (fibroides), rechazo al trasplante de órganos crónico. Puede haber beneficios adicionales para la inhibición adicional de integrinas  $\alpha_v\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_5$  o  $\alpha_v\beta_8$ .

- 35
- 40
- 45

Además, las lesiones pre-cancerosas o cánceres asociados con integrinas  $\alpha_v\beta_6$  pueden tratarse también (estos pueden incluir aunque no están limitados a cánceres de endometrio, célula basal, hígado, colon, cuello de útero, oral, páncreas, mama y ovario, sarcoma de Kaposi, tumores de células gigantes y cáncer asociado con estroma). Los procesos que pueden derivar beneficios a partir de los efectos en la angiogénesis pueden beneficiar también (por ejemplo tumores sólidos).

- 50

El término "enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista  $\alpha_v\beta_6$ ", pretende incluir cualquiera o todos los estados de enfermedad anteriores.

En una realización la enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista  $\alpha_v\beta_6$  es fibrosis pulmonar idiopática.

- 55

En otra realización la enfermedad o proceso para el que está indicado un antagonista  $\alpha_v\beta_6$  se selecciona de

cicatrización de la córnea, lesión de la córnea o curación de herida en la córnea.

#### Composiciones

5 Mientras sea posible que para el uso en terapia, un compuesto de fórmula (I) además de sales farmacéuticamente aceptables del mismo puedan administrarse como el compuesto químico en bruto, es normal presentar el ingrediente activo como una composición farmacéutica.

10 La presente invención proporciona por lo tanto en un aspecto adicional una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de la fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables son como se describen anteriormente. El(los) vehículo(s), diluyente(s) o excipiente(s) debe(n) ser aceptable(s) en el sentido de ser compatible(s) con los demás ingredientes de la composición y no dañinos para el recipiente de los mismos.

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona también un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede ser para uso en el tratamiento de cualquiera de los procesos descritos en esta memoria.

15 Además se proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades o procesos para los que está indicado un antagonista de integrina  $\alpha_v\beta_6$  que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Se proporciona además una composición farmacéutica que comprende 0,01 a 3000 mg de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéutica del mismo y 0,1 a 2 g de uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Como se pretenden usar los compuestos de fórmula (I) en composiciones farmacéuticas se entenderá fácilmente que se proporcione cada uno preferiblemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo, al menos puro al 60%, más adecuadamente al menos puro al 75% y preferiblemente al menos puro al 85%, especialmente al menos puro al 98% (% en un peso para la base en peso).

25 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosis unitaria que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o sub-dosis diaria, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Dichas dosis unitarias pueden administrarse por tanto más de una vez al día. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o sub-dosis diaria (para administración más de una vez al día), como se enumera anteriormente en esta memoria, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo.

30 Las composiciones farmacéuticas pueden adaptarse para la administración por cualquier ruta apropiada, por ejemplo por la ruta oral (que incluye bucal o sublingual), rectal, inhalada, intranasal, tópica (que incluye bucal, sublingual o transdérmica), vaginal, ocular o parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones pueden prepararse por cualquier método conocido en la técnica de la farmacia, por ejemplo poniendo en asociación el ingrediente activo con el(los) vehículo(s) o excipiente(s).

En una realización la composición farmacéutica se adapta para la administración oral.

35 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; disoluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o batidos; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

40 Por ejemplo, para administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse con un vehículo inerte oral, no tóxico, farmacéuticamente aceptable tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos adecuados para la incorporación en comprimidos o cápsulas pueden prepararse reduciendo el compuesto a un tamaño de partícula fino adecuado (por ejemplo por micronización) y mezclando con un vehículo farmacéutico preparado de forma similar tal como un carbohidrato comestible, como por ejemplo, almidón o manitol. Aromatizante, conservante, agente de dispersión y colorante pueden también estar presentes.

45 Las cápsulas pueden hacerse preparando una mezcla en polvo, como se describe anteriormente, y llenando las cubiertas de gelatina formadas. Los deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido puede añadirse a la mezcla en polvo antes de la operación de llenado. Un agente disgregante o de solubilización tal como agaragar, carbonato de calcio o carbonato sódico puede añadirse también para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando la cápsula se ingiere.

50 Además, cuando se desee o sea necesario, pueden incorporarse también aglutinantes, deslizantes, lubricantes, agentes edulcorantes, aromas, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados en la mezcla. Aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz,

gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares.

Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato sódico, estearato sódico, estearato de magnesio, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico y similar.

- 5 Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o precomprimiendo, añadiendo un lubricante y disgregante y prensando en comprimidos. Una mezcla en polvo se prepara mezclando el compuesto, dividido de forma adecuada, con un diluyente o base como se describe anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina, o polivinilpirrolidona, una disolución retardante tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo puede granularse humectando con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o disoluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a través de una criba. Como una alternativa al granulado, la mezcla en polvo puede hacerse marchar a través de la máquina de comprimidos y el resultado se forma de modo imperfecto cápsulas rotas en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para evitar que se peguen a las boquillas que forman el comprimido por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime entonces en comprimidos. Los compuestos de la presente invención pueden combinarse también con un vehículo inerte de flujo libre y comprimirse en comprimidos directamente sin ir a través de las etapas de granulado o encapsulado. Puede proporcionarse un recubrimiento protector claro u opaco que consiste en un recubrimiento de sellado de shellac, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento pulido de cera. Pueden añadirse tintes a estos recubrimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.

- 25 Pueden prepararse fluidos orales tales como disolución, jarabes y elixires en forma unitaria de dosificación de manera que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una disolución acuosa aromatizada adecuadamente, mientras los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulgentes tales como alcoholes de isostearilo etoxilado y polioxi-etilensorbitol-éteres, conservantes, aditivo de aroma tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

- 30 donde sea apropiado, las composiciones unitarias de dosificación para la administración oral pueden microencapsularse. La formulación puede prepararse también para prolongar o sostener la liberación como por ejemplo recubriendo o incrustando el material particulado en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de la invención pueden administrarse también en forma de sistemas de reparto de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

- 35 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden presentarse como parches discretos previstos para permanecer en íntimo contacto con la epidermis del receptor durante un periodo prolongado de tiempo.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, disoluciones, pastas, geles, pulverizados, aerosoles o aceites.

- 40 Para tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo boca y piel, las composiciones se aplican preferiblemente como una pomada o crema tópica. Cuando se formula en una pomada, el ingrediente activo puede emplearse con base de pomada o parafínica o miscible en agua. De forma alternativa, el ingrediente activo puede formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite. Los compuestos de esta invención pueden administrarse como gotas oculares tópicas. Los compuestos de esta invención pueden administrarse por medio de rutas sub-conjuntivas, intracámara o intravítrea que necesitarían intervalos de administración que son más largos que diarios.

- 50 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas al ojo incluyen gotas oculares en donde el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso. Las formulaciones a administrar al ojo tendrán pH y osmolalidad oftálmicamente compatibles. Uno o más agentes de ajuste de pH oftálmicamente aceptables y/o agentes de tamponado pueden incluirse en una composición de la invención, que incluye ácidos tales como ácidos acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido sódico, fosfato sódico, borato sódico, citrato sódico, acetato sódico y lactato sódico; y tampones tales como citrato/dextrosa, bicarbonato sódico y cloruro de amonio. Dichos ácidos, bases y tampones pueden incluirse en una cantidad necesaria para mantener el pH de la composición en un intervalo oftálmicamente aceptable. Una o más sales oftálmicamente aceptables pueden incluirse en la composición en una cantidad suficiente para traer la osmolalidad de la composición a un intervalo oftálmicamente aceptable. Dichas sales incluyen las que tienen cationes sodio, potasio o amonio y aniones cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o bisulfito.

El dispositivo de reparto ocular puede diseñarse para la liberación controlada de uno o más agentes terapéuticos con

múltiples velocidades de liberación definidas y cinéticas de dosis y permeabilidad sostenidas. La liberación controlada puede obtenerse a través del diseño de matrices poliméricas que incorporan diferentes opciones y propiedades de polímeros biodegradables/bioerosionables (por ejemplo acetato de poli(etilenvinilo) (EVA), PVA superhidrolizado), hidroxialquilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), policaprolactona, poli(ácido glicólico), poli(ácido láctico), polianhídrido de pesos moleculares poliméricos, cristalinidad polimérica, relaciones copoliméricas, condiciones de procesado, acabado superficial, geometría, adición de excipientes y recubrimientos poliméricos que mejorarán la difusión del fármaco, erosión, disolución y ósmosis.

Las formulaciones para el reparto de fármaco que usan dispositivos oculares pueden combinar uno o más agentes activos y adyuvantes apropiados para la ruta de administración indicada. Por ejemplo, los agentes activos pueden mezclarse con cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable, lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de celulosa de ácido alcanicoico, ácido esteárico, talco, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, goma arábiga, gelatina, alginato sódico, polivinilpirrolidina, y/o poli(alcohol de vinilo), comprimido o encapsulado para administración convencional. De forma alternativa, los compuestos pueden disolverse en polietilenglicol, propilenglicol, disoluciones coloidales de carboximetilcelulosa, etanol, aceite de maíz, aceite de cacahuete, aceite de algodón, aceite de sésamo, goma de tragacanto y/o varios tampones. Los compuestos pueden mezclarse también con composiciones de polímeros tanto biodegradables como no biodegradables y un vehículo o diluyente que tiene una propiedad de retraso en el tiempo. Ejemplos representativos de composiciones biodegradables pueden incluir albúmina, gelatina, almidón, celulosa, dextranos, polisacáridos, poli(D,L-lactida), poli(D,L-lactida-co-glicolida), poli(glicolida), poli(hidroxibutirato), poli(alquilcarbonato) y poli(ortoésteres) y mezclas de los mismos. Ejemplos representativos de polímeros no biodegradables pueden incluir copolímeros EVA, caucho de silicona y poli(metilacrilato), y mezclas de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas para reparto ocular también incluyen composición acuosa gelificable *in situ*. Dicha composición comprende un agente gelificante en una concentración efectiva para promover la gelificación al contacto con el ojo o con el fluido lacrimal. Los agentes gelificantes adecuados incluyen aunque no están limitados a polímeros termorresistentes. El término "gelificable *in situ*" como se usa en esta memoria incluye no solo líquidos de baja viscosidad que forman geles al contacto con el ojo o con fluido lacrimal, sino también incluye líquidos más viscosos tales como geles semi-fluidos y tixotrópicos que muestran viscosidad sustancialmente aumentada o rigidez de gel en la administración al ojo. Véase, por ejemplo, Ludwig (2005) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 3; 57:1595-639, incorporado en esta memoria por referencia para propósitos de sus enseñanzas de ejemplos de polímeros para uso en reparto de fármaco ocular.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar, pastillas y enjuagues bucales.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal pueden presentarse como supositorios o como enemas.

Las formas de dosificación para administración nasal o inhalada pueden formularse de forma conveniente como aerosoles, disoluciones, suspensiones, geles o polvos secos.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en pulverizado.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen disoluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener anti-oxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que dan la composición isotónica con la sangre del recipiente previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitarias o multi-dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en una condición seca por congelación (liofilizada) que necesita solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Las disoluciones y suspensiones de inyección extemporáneas pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración subcutánea o intramuscular incluyen copolímero poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) para formar micropartículas que contienen el ingrediente farmacéutico activo para proporcionar liberación sostenida.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención dependerá de un número de factores que incluyen, por ejemplo, la edad y peso del sujeto, el proceso preciso que necesita tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación, y la ruta de administración, y será por último a la discreción del médico o veterinario que atiende. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación para administración oral o parenteral contiene preferiblemente de 0,01 a 3000 mg, más preferiblemente 0,1 a 2000 mg, de un compuesto de la invención calculado como el compuesto parental zwitteriónico.

Los compuestos farmacéuticamente aceptables de la invención pueden administrarse en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3000 mg por día o 0,5 a 1000 mg por día del compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculado como el zwitterión. Esta

cantidad puede darse en una dosis única por día o más normalmente en un número (tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis) de sub-dosis por día de manera que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad efectiva de una sal del mismo puede determinarse como una proporción de la cantidad efectiva del compuesto de fórmula (I) *per se*.

- 5 Los compuestos de la invención pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. Las terapias de combinación según la presente invención comprenden así la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el uso de al menos un agente farmacéuticamente activo distinto. Preferiblemente, las terapias de combinación según la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente farmacéuticamente activo distinto. El(los) compuesto(s) de la invención y el(los) agente(s) farmacéuticamente activo(s) distinto(s) puede(n) administrarse juntos en una única composición farmacéutica o de forma separada y, cuando se administran de forma separada esto puede darse de forma simultánea o secuencialmente en cualquier orden. Las cantidades del(de los) compuesto(s) de la invención y el(los) agente(s) farmacéuticamente activo(s) distinto(s) y los tiempos relativos de administración se seleccionarán para alcanzar el efecto terapéutico combinado deseado.
- 10
- 15 Así en un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de la invención y al menos un agente farmacéuticamente activo distinto.

- Así en un aspecto, el compuesto y las composiciones farmacéuticas según la invención pueden usarse en combinación con o incluir uno o más agentes terapéuticos distintos, que incluyen terapias para enfermedad alérgica, enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune, terapias anti-fibróticas y terapias para enfermedad obstructiva de las vías aéreas, terapias para enfermedades oculares diabéticas y terapias para la cicatrización de la córnea, lesión de la córnea y curado de herida de la córnea.
- 20

- Las terapias anti-alérgicas incluyen inmunoterapia de antígenos (tales como componentes y fragmentos de veneno de abeja, polen, leche, cacahuetes, motivos CpG, colágeno, otros componentes de matriz extracelular que pueden administrarse como antígenos orales o sublinguales), anti-histaminas (tales como cetirizina, loratidina, acrivastina, fexofenidina, clorfenamina) y corticosteroides (tales como propionato de fluticasona, furoato de fluticasona, dipropionato de beclometasona, budesonida, ciclesonida, furoato de mometasona, triamcinolona, flunisolida, prednisolona, hidrocortisona).
- 25

- Las terapias anti-inflamatorias incluyen AINEs (tales como aspirina, ibuprofeno, naproxeno), moduladores de leucotrieno (tales como montelukast, zafirlukast, pranlukast) y otras terapias anti-inflamatorias (tales como inhibidores de iNOS, inhibidores de triptasa, inhibidores de IKK2, inhibidores de p38 (losmapimod, dilmapimod), inhibidores de elastasa, agonistas de beta2, antagonistas de DP1, antagonistas de DP2, inhibidores de p13K delta, inhibidores de ITK, inhibidores LP (lisofosfatídicos) o inhibidores de FLAP (proteína que activa 5-lipoxigenasa) (tal como 3-(3-(terc-butilitio)-1-(4-(6-etoxipiridin-3-il)bencil)-5-((5-metilpiridin-2-il)metoxi)-1H-indol-2-il)-2,2-dimetilpropanoato sódico); agonistas de adenosina a2a (tal como adenosina y regadenosona), antagonistas de quemoquina (tal como antagonistas de CCR3 o antagonistas de CCR4), inhibidores de liberación de mediador.
- 30
- 35

- Las terapias para enfermedad autoinmune incluyen FARMES (tal como metotrexato, leflunomida, azatioprina), terapias biofarmacéuticas (tales como anti-IgE, anti-TNF, anti-interleuquinas (tales como anti-IL-1, anti-IL-6, anti-IL-12, anti-IL-17, anti-IL-18)), terapias de receptor (tal como etanercept y agentes similares); inmunoterapias no específicas de antígeno (tales como interferón u otras citoquinas/quimoquinas, moduladores del receptor de citoquina/quemoquina, agonistas o antagonistas de citoquina, agonistas de TLR y agentes similares).
- 40

- Otras terapias anti-fibróticas incluyen inhibidores de síntesis de TGFβ (tal como pirfenidona), inhibidores de tirosina quinasa que se dirigen al factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP) y factor de crecimiento de fibroblasto (FCF) receptor quinasas (tales como Nintedanib (BIBF-1120) y mesilato de imatinib (Gleevec)), antagonistas del receptor de endotelina (tales como ambrisentano o macitentan), antioxidantes (tal como N-acetilcisteína (NAC); antibióticos de amplio espectro (tal como cotrimoxazol, tetraciclinas (hidrocloruro de minociclina)), inhibidores de fosfodiesterasa 5 (PDE5) (tal como sildenafil), anticuerpos y fármacos anti-αvβx (tal como anticuerpos monoclonales anti-αvβ6 (tal como los descritos en la memoria WO2003100033A2); intetumumab; cilengitida) pueden usarse en combinación.
- 45

- Las terapias para enfermedades obstructivas de las vías aéreas incluyen broncodilatadores tales como β2-agonistas de actuación a corto plazo, tal como salbutamol), β2-agonistas de actuación a largo plazo (tal como salmeterol, formoterol y vilanterol), antagonistas muscarínicos de actuación a corto plazo (tal como bromuro de ipratropio), antagonistas muscarínicos de actuación a largo plazo (tal como tiotropio, umeclidinio).
- 50

- En algunas realizaciones, el tratamiento puede implicar la combinación de un compuesto de esta invención con otros modos existentes de tratamiento, por ejemplo, agentes existentes para el tratamiento de enfermedades oculares diabéticas, tales como agentes terapéuticos anti-FCEV, por ejemplo Lucentis®, Avastin® y Aflibercept y esteroides, por ejemplo, triamcinolona, e implantes esteroidales que contienen fluocinolona acetona.
- 55

En algunas realizaciones, el tratamiento puede implicar también la combinación de un compuesto de esta invención con otros modos existentes de tratamiento, por ejemplo agentes existentes para el tratamiento de cicatrizado de la

córnea, lesión de la córnea o curado de herida en la córnea, tal como Gentel®, extracto de sangre de ternera, Levofloxacin® y Ofloxacin®.

5 Los compuestos y composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar cánceres solos o en combinación con terapias para el cáncer que incluyen quimioterapia, radioterapia, agentes dirigidos, inmunoterapia y terapia celular o génica.

10 Será claro para un experto en la técnica que, donde sea apropiado, el(los) demás ingrediente(s) terapéutico(s) pueden usarse en forma de sales, por ejemplo como sales de metal alcalino o amina o como sales de adición de ácido, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo ésteres de alquilo inferiores, o como solvatos, por ejemplo hidratos, para optimizar la actividad y/o estabilidad y/o características físicas, tal como solubilidad, del ingrediente terapéutico. Estará claro también que, donde sea apropiado, los ingredientes terapéuticos pueden usarse en forma ópticamente pura.

15 Las combinaciones referidas anteriormente pueden presentarse de forma conveniente para uso en la forma de una composición farmacéutica y así las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se define anteriormente junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable representan un aspecto adicional de la invención. Los compuestos individuales de dichas combinaciones pueden administrarse o bien secuencialmente o simultáneamente en composiciones farmacéuticas separadas o combinadas. Preferiblemente, los compuestos individuales se administrarán de forma simultánea en una composición farmacéutica combinada. Las dosis apropiadas de agentes terapéuticos conocidos se apreciarán fácilmente por los expertos en la técnica.

20 Se apreciará que cuando el compuesto de la presente invención se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos distintos normalmente administrados por la ruta inhalada, intravenosa, oral, intranasal, ocular tópica u otra ruta que la composición farmacéutica resultante puede administrarse por la misma ruta. De forma alternativa, los componentes individuales de la composición pueden administrarse por rutas diferentes.

Las presentes invenciones se ilustrarán ahora por medio solo de ejemplo.

#### Abreviaturas

25 La siguiente lista proporciona definiciones de ciertas abreviaturas como se usan en esta memoria. Se apreciará que la lista no es exhaustiva, pero el significado de estas abreviaturas no definidas a continuación en esta memoria será fácilmente evidente para los expertos en la técnica.

Ac (acetilo)

BCECF-AM (acetoximetiléster de 2',7'-bis-(2-carboxietil)-5-(y 6)-carboxifluoresceína)

BEH (Tecnología híbrida en puente de etileno)

30 Bu (butilo)

CBZ (carboxibencilo)

CHAPS (3-[(3-Colamidopropil)dimetilamonio]-1-propanosulfonato)

Chiralcel OD-H (tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulosa recubierto en 5 µm de gel de sílice)

Chiralpak AD-H (tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de amilosa recubierto en 5 µm de gel de sílice)

35 Chiralpak ID (tris(3-clorofenilcarbamato) de amilosa inmovilizado en 5 µm de gel de sílice)

Chiralpak AS (tris((S)-alfa-metilbencilcarbamato) de amilosa recubierto en 5 µm de gel de sílice)

CDI (carbonildiimidazol)

CSH (Tecnología híbrida de superficie cargada)

CV (volumen de columna)

40 DCM (diclorometano)

DIPEA (diisopropiletilamina)

DMF (N,N-dimetilformamida)

DMSO (dimetilsulfóxido)

DSC (calorimetría de barrido diferencial)

45 Et (etilo)

- EtOH (etanol)  
EtOAc (acetato de etilo)  
h (hora/horas)  
HCl (ácido clorhídrico)
- 5 HEPES (ácido 4-(2-hidroxiethyl)-1-piperazinaetanosulfónico)  
LCMS (cromatografía líquida espectrometría de masas)  
MDAP (HPLC auto-preparativo dirigido por masas)  
MDCK (riñón canino de Madin-Darby)  
Me (metilo)
- 10 MeCN (acetonitrilo)  
MeOH (metanol)  
MS (espectro de masas)  
min minuto/minutos  
PdCl<sub>2</sub>(dppf)-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> [1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano
- 15 Ph (fenilo)  
iPr (isopropilo)  
(R)-BINAP (R)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binafataleno  
[Rh(COD)Cl]<sub>2</sub> ((dímero de cloro(1,5-ciclooctadieno)rodio (I))  
TR (tiempo de retención)
- 20 SPE (extracción en fase sólida)  
TBME (terc-butilmetiléter)  
TEA (trietilamina)  
TFA (ácido trifluoroacético)  
TGA (análisis termogravimétrico)
- 25 THF (tetrahidrofurano)  
TLC (cromatografía en capa fina)  
UPLC (cromatografía líquida de ultra rendimiento)
- Todas las referencias a salmuera se refieren a disolución acuosa saturada de cloruro sódico.
- Detalles experimentales
- 30 LCMS analítico
- La LCMS analítica se realizó en uno de los siguientes sistemas A, B o C.
- La detección UV de todos los sistemas fue una señal promedio de longitud de onda de 220 nm a 350 nm y los espectros de masas se grabaron en un espectrómetro de masas usando ionización de electropulverizado en modo negativo y positivo de barrido alterno.
- 35 Los detalles experimentales de los sistemas LCMS A-D como se denominan en esta memoria son como sigue:

## ES 2 690 748 T3

### Sistema A

Columna: 50 mm x 2,1 mm de DI, columna Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> de 1,7 µm

Caudal: 1 mL/min.

Temp.: 40°C

5 Disolventes:

A: bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con disolución de amoniaco

B: acetonitrilo

Gradiente:

	<u>tiempo (min)</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
10	0	99	1
	1,5	3	97
	1,9	3	97
	2,0	99	1

### Sistema B

15 Columna: 50 mm x 2,1 mm de DI, columna Acquity UPLC BEH C18 de 1,7 µm

Caudal: 1 mL/min

Temp.: 40°C

Disolventes:

A: disolución v/v al 0,1% de ácido fórmico en agua

20 B: disolución v/v al 0,1% de ácido fórmico en acetonitrilo

Gradiente:

	<u>Tiempo (min)</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
	0	97	3
	1,5	0	100
25	1,9	0	100
	2,0	97	3

### Sistema C

Columna: 50 mm x 2,1 mm de DI; columna Acquity UPLC CSH C18 de 1,7 µm

Caudal: 1 mL/min

30 Temp.: 40°C

Disolventes:

A: bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con disolución de amoniaco

B: acetonitrilo

Gradiente:

	<u>Tiempo (min)</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
35	0	97	3
	1,5	5	95

1,9	5	95
2,0	97	3

Sistema D

Columna: 50 mm x 2,1 mm de DI, columna Acquity UPLC BEH C18 de 1,7  $\mu$ m

5 Caudal: 1 mL/min

Temp.: 40°C

Disolventes:

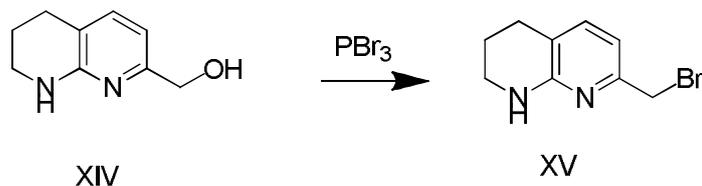
A: disolución v/v al 0,1% de ácido trifluoroacético en agua

B: disolución v/v al 0,1% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo

10 Gradiente:

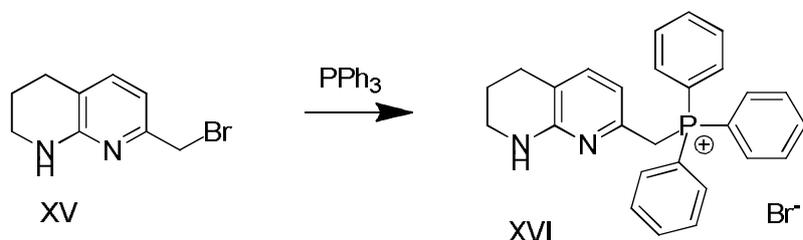
Tiempo (min)	% de A	% de B
0	95	5
1,5	5	95
1,9	5	95
2,0	95	5

Intermedio 1: 7-(Bromometil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina (Compuesto XV)



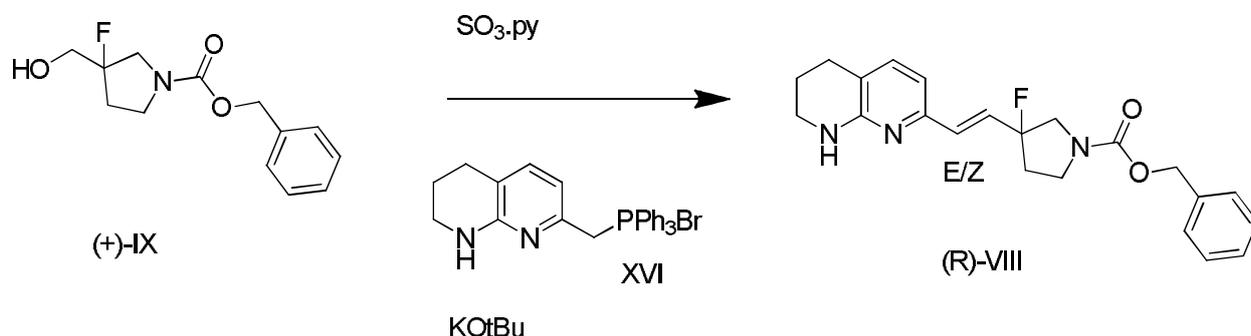
20 Se añadió tribromuro de fósforo (0,565 mL, 5,99 mmoles) en gotas a una suspensión de (5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)metanol (Compuesto XIV): véase el documento US20040092538, página 80) (820 mg, 4,99 mmoles) en acetonitrilo anhidro (50 mL) a 0°C en nitrógeno. En la adición se formó precipitado de color naranja oscuro, que se volvió a naranja claro. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 h en cuyo momento la reacción estaba completa. La mezcla se concentró *al vacío* y el residuo se repartió entre acetato de etilo (250 mL) y una disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (250 mL). La fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo (250 mL). Las disoluciones orgánicas combinadas se pasaron a través de una frita hidrófoba y se concentraron entonces *al vacío* para dar el *compuesto del título* (1,05 g, 93%) como un sólido cremoso esponjoso: LCMS (Sistema C) TR = 0,95 min, ES+ve m/z 227, 229 (M+H)<sup>+</sup>.

Intermedio 2: Bromuro de trifenil((5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)metil)fosfonio (Compuesto (XVII))



30 Una disolución de 7-(bromometil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina (Compuesto (XV), Intermedio 1) (1,00 g, 4,40 mmoles) en acetonitrilo (98 mL) se trató con trifenilfosfina (1,270 g, 4,84 mmoles) y la disolución se agitó a temperatura ambiente en nitrógeno toda la noche. La mezcla se concentró *al vacío* para dar un sólido crema oscuro, que se trituró después con dietiléter para dar el compuesto del título (2,139 g, 99%) como un sólido crema claro: LCMS (Sistema C) TR = 1,23 min, ES+ve m/z 409 (M+H)<sup>+</sup>.

Intermedio 3: 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidina-1-carboxilato de (E,Z)-bencilo (Compuesto (VIII))



Una disolución agitada de 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (+)-bencilo (Compuesto (IX)): disponible de Wuxi App Tec) (260 mg, 1,03 mmoles) en DCM (3 mL) y DMSO (0,3 mL), en nitrógeno, se trató con DIPEA (0,896 mL, 5,13 mmoles). Después de enfriar a 0-5°C (baño de hielo) se añadió trióxido de azufre piridina (327 mg, 2,05 mmoles) en una vez durante alrededor de 5 min para oxidar el compuesto alcohol (IX) al correspondiente compuesto aldehído (X) que no se aisló. El baño de enfriamiento se eliminó y la agitación se continuó durante 0,5 h. Mientras una disolución de bromuro de trifenil((5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)metil)fosfonio (Compuesto (XVI), para una preparación véase Intermedio 2) (553 mg, 1,13 mmoles) en DCM anhidro (10 mL), en nitrógeno, se trató en gotas con *tert*-butóxido de potasio (1M en THF) (1,232 mL, 1,232 mmoles) durante alrededor de 5 min dando por resultado una disolución coloreada de naranja. La agitación se continuó durante 10 min y después la disolución de aldehído (fórmula (X)) se añadió a la disolución de ilida de una vez y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 22 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 mL), se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (20 mL) y salmuera (20 mL), se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) después se evaporó *al vacío*. El residuo marrón oscuro se purificó por cromatografía en un cartucho de SPE se sílice de 20 g y se eluyó con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo-ciclohexano durante 30 min para obtener *el compuesto del título* como dos isómeros geométricos:

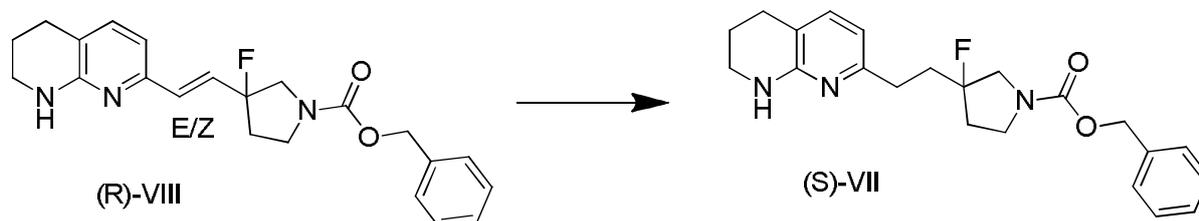
Isómero 1: una goma de color pajizo (123,4 mg, 31%), LCMS (Sistema A) TR = 1,28 min, 95%, ES+ve  $m/z$  382 (M+H)<sup>+</sup>

Isómero 2: una goma de color pajizo (121,5 mg, 31%), LCMS (Sistema A) TR = 1,22 min, 91%, ES+ve  $m/z$  382 (M+H)<sup>+</sup>

Rendimiento total = 244,9 mg, 62,5%.

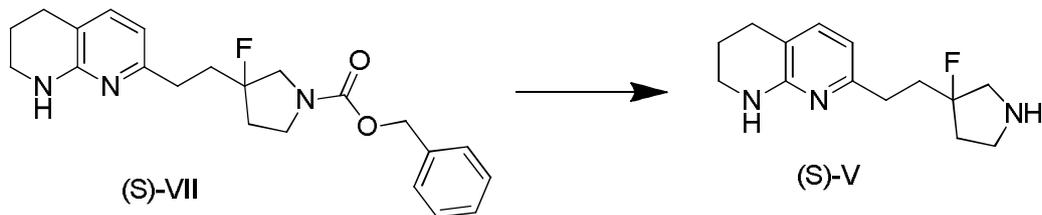
La configuración del Intermedio 3 se mostró posteriormente que era (R) y los dos isómeros geométricos son: 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidona-1-carboxilato de (R,E)-bencilo y 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidina-1-carboxilato de (R,Z)-bencilo.

Intermedio 4: 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidina-1-carboxilato de bencilo (Compuesto (VII))



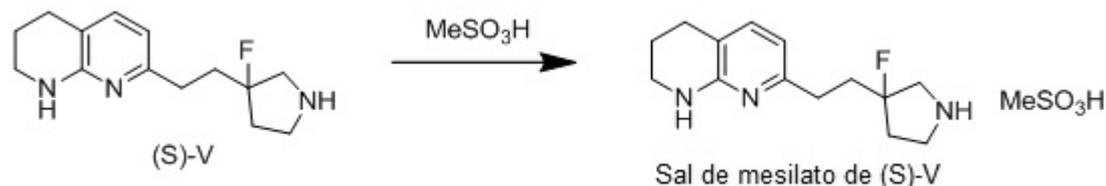
Una disolución de 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidina-1-carboxilato de (E,Z)-bencilo (Compuesto VIII, Intermedio 3) (244 mg, 0,640 mmoles) (1:1, E:Z) en DMF (2 mL) se trató con bencenosulfonilhidrazida (disponible de Alfa Aesar) (275 mg, 1,60 mmoles) y carbonato de potasio (354 mg, 2,56 mmoles). La mezcla de reacción se calentó a 130°C durante 1 h, después se dejó enfriar y se repartió entre DCM y agua. La fase orgánica se lavó con agua y se secó a través de una frita hidrófoba. La disolución orgánica se evaporó *al vacío* y el aceite naranja residual se purificó por cromatografía en un cartucho de sílice (20 g) eluyendo con un gradiente de 0-50% [(3:1 EtOAc-EtOH) – EtOAc] durante 20 min. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron *al vacío* para dar *el compuesto del título* (150 mg, 61%) como una goma amarilla clara: LCMS (Sistema A) TR = 1,24 min, 90%, ES+ve  $m/z$  384 (M+H)<sup>+</sup>. La configuración absoluta de Intermedio 4 se mostró posteriormente que era (S) por tanto el compuesto es 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-bencilo. El cambio de (R) en el Intermedio 3 a (S) en el Intermedio 4 es debido al cambio en la prioridad en la eliminación del doble enlace.

Intermedio 5: 7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina (Compuesto (V))



Una disolución agitada de 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidina-1-carboxilato de bencilo (Compuesto (VII), Intermedio 4) (4,67 g, 12,2 mmoles) en etanol (70 mL) que contenía 10% de paladio en carbono (0,50 g) se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 7 h. LCMS mostró desprotección incompleta y se añadió 10% de paladio en carbono adicional (0,25 g) y la mezcla se agitó en una atmósfera de hidrógeno toda la noche. La mezcla de reacción existió como una suspensión gris oscura así que se añadió DCM para disolver el material hasta que la mezcla se volvió negra. El catalizador se eliminó por filtración a través de un tapón de celite y el filtrado y los lavados se evaporaron *al vacío*. El residuo se evaporó desde DCM para obtener *el compuesto del título* como un aceite naranja (3,28 g): LCMS (Sistema A) TR = 0,79 min, 90%, ES+ve  $m/z$  250 (M+H)<sup>+</sup>. La configuración del Intermedio 5 se estableció posteriormente como (S) y el nombre del compuesto es (S)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina.

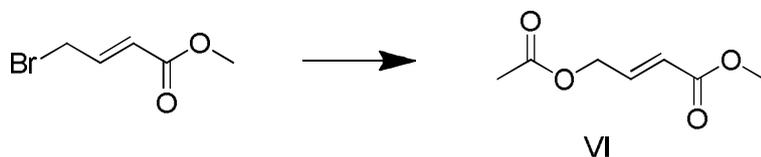
Intermedio 6: sal de ácido metanosulfónico de [7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina, (Compuesto (V))



La sal del compuesto (V) puede prepararse y cristalizarse como un método de purificación del compuesto (V) anterior.

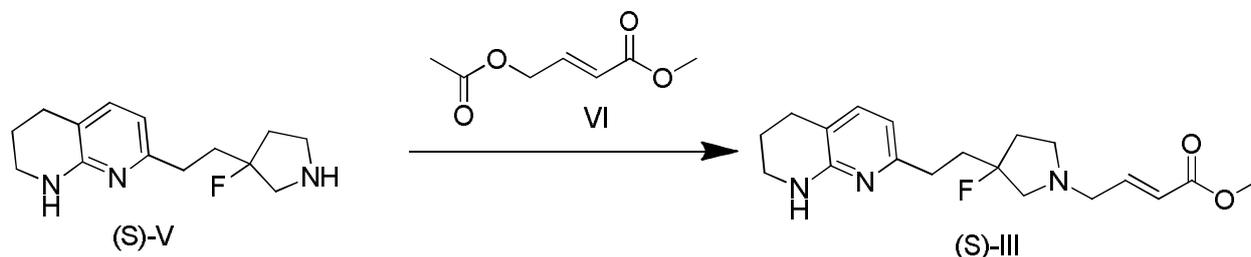
Se añadió 2-butanol (5 mL) a 7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina (Compuesto (V)) (1,0 g, 4,0 mmoles) y la mezcla se calentó hasta que se alcanzó la disolución completa. Se añadió ácido metanosulfónico (0,260 mL, 4,01 mmoles) a la disolución caliente y la mezcla se calentó a 80°C con agitación. La disolución se dejó entonces enfriar a temperatura ambiente. La precipitación no fue evidente inmediatamente, así que la disolución se enfrió más en un frigorífico (alrededor de 4°C). Después de 3 días, una cantidad significativa de sólido se observó. El sólido se aisló por filtración y se lavó con 2-butanol frío, y se secó más *al vacío* para proporcionar *el compuesto del título* (600 mg, 43%) como un sólido amarillo claro: LCMS (Sistema A) TR = 0,80 min, 100%, ES+ve  $m/z$  250 (M+H)<sup>+</sup>; HPLC quiral analítico en una columna Chiralpak AD (250 mm x 4,6 mm) TR = 8,41 min, 99,6% y TR = 12,03 min, 0,4%, eluyendo con 40% de EtOH-heptano (que contiene 0,2% de isopropilamina), caudal 1 mL/min, detectando a 235 nm. La configuración del Intermedio 6 se estableció posteriormente como (S) y el nombre del compuesto es sal de ácido metanosulfónico de (S)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina.

Intermedio 7: 4-Acetoxibut-2-enoato de (E)-metilo (Compuesto (VI))



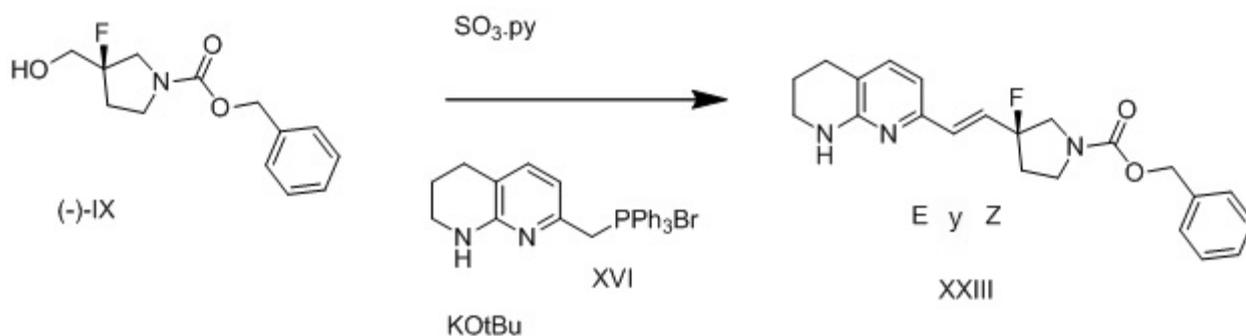
Una suspensión de acetato sódico (3,5 g, 42 mmoles) en MeCN (30 mL) se trató con 4-bromocrotonato de metilo (Aldrich) (3,33 mL, 5 g, 28 mmoles) y la mezcla se calentó a 50°C durante 3 d. La mezcla se diluyó con éter y después se filtró. El sólido se lavó con éter y el filtrado y los lavados combinados se evaporaron a presión reducida. Después de la evaporación el residuo se repartió entre éter y agua. La fase orgánica se lavó con bicarbonato sódico acuoso, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, y se evaporó a presión reducida para dar un aceite naranja claro. La RMN indicó una mezcla de producto y material de partida, por lo tanto, se añadió acetato sódico (3,44 g, 42 mmoles) al aceite residual, seguido por MeCN (10 mL) y la mezcla se calentó a 70°C durante el fin de semana. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se repartió entre éter y agua. La disolución orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se filtró. El filtrado se evaporó a presión reducida para dar *el compuesto del título* (3,55 g, 80%) como un aceite naranja: RMN δ (CDCl<sub>3</sub>) 6,92 (1H, dt, J 16, 5 Hz), 6,01 (1H, dt, J 16, 2 Hz), 4,72 (2H, dd, J 5, 2 Hz), 3,73 (3H, s), 2,10 (3H, s).

Intermedio 8: 4-(3-Fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de (*E*)-metilo (Compuesto (III))



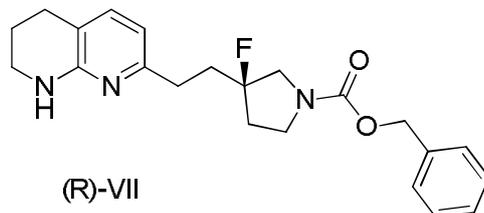
Una mezcla de 4-acetoxibut-2-enoato de (*E*)-metilo (compuesto (VI)), para una preparación véase Intermedio 7) (127 mg, 0,802 mmoles), 7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina (compuesto (V), para una preparación véase Intermedio 5) (200 mg, 0,802 mmoles) y aducto PdCl<sub>2</sub>(dppf)-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (65,7 mg, 0,080 mmoles) en DCM (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. LCMS mostró alrededor de 50% de conversión y DIPEA (0,279 mL, 1,60 mmoles) se añadió y la disolución se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. LCMS mostró casi conversión completa al producto. El material se cargó directamente en una columna y se purificó por cromatografía (cartucho de 20 g de aminopropilo) eluyendo con un gradiente de 0-100% de EtOAc en ciclohexano durante 20 minutos. Las fracciones apropiadas se combinaron y evaporaron para dar *el compuesto del título* (101,4 mg, 36%): LCMS (Sistema A) TR = 1,08 min, 95%, ES+ve *m/z* 348 (M+H)<sup>+</sup>. La configuración de Intermedio 8 se estableció como (*S*) y el nombre es 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-3-enoato de (*S,E*)-metilo.

Intermedio 9: 3-Fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidina-1-carboxilato de (*E,Z*)(*S*)-bencilo (Compuesto (XXIII)).



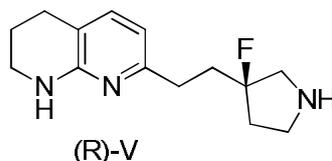
Una disolución agitada de 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (*R*)-(-)-bencilo [(-)-compuesto (IX)] (disponible de Wuxi App Tec) (4,18 g, 16,50 mmoles) en diclorometano (60 mL) y DMSO (5,86 mL, 83 mmoles) se trató con DIPEA (14,41 mL, 83 mmoles) en nitrógeno. Después de enfriar a 0-5°C en un baño de hielo, se añadió trióxido de azufre y piridina (5,40 g, 33,9 mmoles) en una parte durante alrededor de 5 min. La disolución se volvió de color amarillo claro y la agitación se continuó durante alrededor de 0,5 h para dar una disolución amarilla. La disolución se lavó con HCl diluido (50 mL) y se secó (MgSO<sub>4</sub>). Después se añadieron bromuro de trifenil((5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)metil)fosfonio (compuesto XVI, Intermedio 2) (8,06 g, 16,47 mmoles) y una pequeña cantidad de DCM (alrededor de 5 mL) antes de la adición de ciclohexano (3,81 mL) para dar una disolución naranja clara. Se añadió *terc*-butóxido de potasio (19,80 mL, 19,80 mmoles) en gotas a esta disolución que dio por resultado una suspensión coloreada en crema. Después de 1 h la mezcla de reacción se diluyó con DCM (200 mL), se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (200 mL) y salmuera (200 mL), se secó (MgSO<sub>4</sub>), después se evaporó al vacío. El aceite naranja oscuro solidificó toda la noche y se trituró con dietiléter (alrededor de 30 mL), después se filtró para dar un sólido crema y un filtrado amarillo. El filtrado se evaporó al vacío para dar un aceite naranja y éste se aplicó a un cartucho de sílice en fase normal de 330 g y se eluyó con un gradiente de ciclohexano/acetato de etilo (0-100% de acetato de etilo durante 50 min). Las fracciones 16-40 se evaporaron *al vacío* para dar *el compuesto del título* como una mezcla de isómeros geométricos (*E*) y (*Z*) (3,953 g, 63%) como una goma coloreada pajiza: LCMS (Sistema C) TR = 1,28 min, 50% y 1,34 min, 46% ES+ve *m/z* 382 (M+H)<sup>+</sup>.

Intermedio 10: 3-Fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidina-1-carboxilato de (*R*)-bencilo



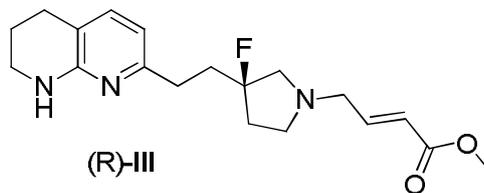
Una disolución agitada de 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidina-1-carboxilato de (*E* y *Z*)-(*S*)-bencilo (Intermedio 9) (3,814 g, 10,00 mmoles) en DMF (40 mL) se trató en nitrógeno con carbonato de potasio (5,53 g, 40,0 mmoles), seguido por bencenosulfonohidrazida (4,38 g, 25,4 mmoles) para dar un líquido amarillo. La mezcla se calentó a 100°C durante 1 h, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró a través de celite. El filtrado se evaporó al vacío para dar una lechada de color crema. Esta se repartió entre agua (100 mL) y acetato de etilo (100 mL) y la fase orgánica se lavó adicionalmente con agua (4 x 100 mL), se secó (MgSO<sub>4</sub>), y después se evaporó al vacío para obtener un aceite amarillo (3,261 g). Este se dejó en línea de alto vacío durante el fin de semana (2,982 g). El aceite se disolvió en el mínimo de DMSO (alrededor de 3 mL) y se aplicó a un cartucho de fase inversa de 120 g y se eluyó con un gradiente de 10-100% (acetonitrilo que contiene 0,1% de NH<sub>3</sub>) en bicarbonato de amonio acuoso 10 mM durante 12 CV. Las fracciones 6-9 se evaporaron parcialmente al vacío para eliminar el acetonitrilo. La disolución restante se diluyó con agua (40 mL) y DCM (60 mL), después se separó. La fase acuosa se extrajo adicionalmente con DCM (3 x 30 mL) y los extractos orgánicos se combinaron, se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y después se evaporaron *al vacío* para dar *el compuesto del título* (2,145 g, 56%) como un aceite amarillo claro: LCMS (Sistema C): TR = 1,25 min, ES+ev *m/z* 384 (M+H)<sup>+</sup>.

Intermedio 11: (*R*)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina



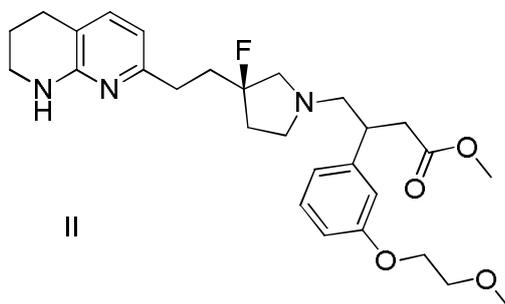
Una disolución de 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidina-1-carboxilato de (*R*)-bencilo (Intermedio 10) (2,334 g, 6,09 mmoles) en etanol (50 mL) se añadió a paladio al 10% en carbono (250 mg, 0,235 mmoles) y la mezcla se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 3 h en cuyo punto se añadió más paladio en carbono (107,2 mg). La reacción se agitó toda la noche. Se añadió DCM (alrededor de 30 mL) y la mezcla se filtró a través de celite en nitrógeno. El filtrado se evaporó al vacío para dar *el compuesto del título* (1,575 g) como un aceite amarillo: LCMS (Sistema C) TR = 0,83 min, ES+ve *m/z* 250 (M+H)<sup>+</sup>.

Intermedio 12: 4-(3-Fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de (*R,E*)-metilo



4-Acetoxibut-2-enoato de (*E*)-metilo (Intermedio 7, compuesto VI) (0,951 g, 6,01 mmoles), (*R*)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina (Intermedio 11) (1,520 g, 6,10 mmoles), aducto de PdCl<sub>2</sub>(dppf)-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,242 g, 0,331 mmoles) y acetato de potasio (2,083 g, 21,22 mmoles) se disolvieron en DCM (25 mL) y la mezcla de reacción se agitó en nitrógeno durante 20 h para dar un líquido naranja (2,188 g). La mezcla de reacción se repartió entre DCM (50 mL) y agua (50 mL) y se extrajo una vez más con DCM (50 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL) y se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se eliminó *al vacío* y el residuo se disolvió en DCM y se purificó en un cartucho de aminopropilo (50 g) usando un gradiente de 0-100% de acetato de etilo-ciclohexano durante 20 min. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron *al vacío* para dar *el compuesto del título* (1,59 g, 75%) como un aceite amarillo. LCMS (Sistema C): TR = 1,07 min, ES+ve *m/z* 348 (M+H)<sup>+</sup>.

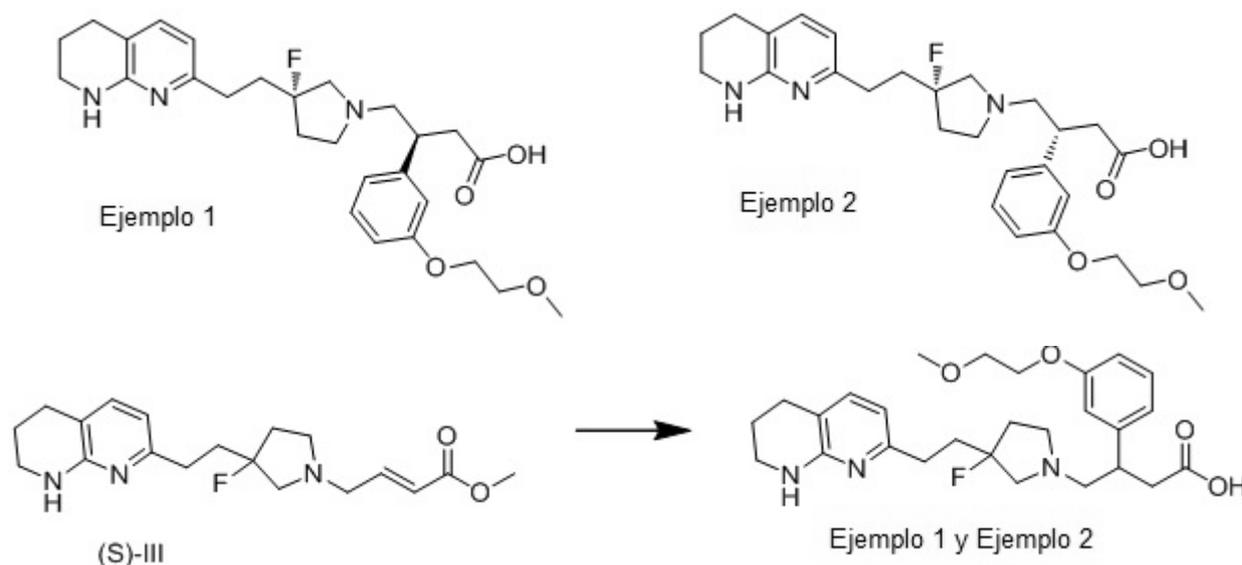
Intermedio 13. 4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoato de metilo



Una suspensión de 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de (*R,E*)-metilo (Intermedio 12, compuesto (*R*)-III) (0,8 g, 2,303 mmoles), ácido (3-(2-metoxietoxi)fenil)borónico (disponible de Manchester Organics, Enamine o Combi-Blocks) (1,389 g, 7,09 mmoles) y dímero cloro(1,5-ciclooctadieno)rodio (I) (57 mg, 0,115 mmoles) en 1,4-dioxano (10 mL) se desgasificó. Una disolución de (*R*)-BINAP (0,173 g, 0,278 mmoles) e hidróxido de potasio 3,8M (1,515 mL, 5,76 mmoles) en 1,4-dioxano (3,33 mL) se desgasificó. La última disolución se añadió a la primera disolución y la mezcla se agitó a 90°C en nitrógeno durante 1,5 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar y después se repartió entre TBME (50 mL) y ácido clorhídrico 2M (30 mL). La fase acuosa se basificó con disolución saturada de bicarbonato sódico y después se extrajo usando acetato de etilo (3 x 30 mL). Los extractos de acetato de etilo se lavaron con salmuera y se secaron (MgSO<sub>4</sub>). El disolvente se eliminó *al vacío* y el residuo se disolvió en el mínimo de DCM cargado en un cartucho de aminopropilo (50 g) y se cromatografió eluyendo con un gradiente de 0-50% de acetato de etilo-ciclohexano durante 20 mins. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron *al vacío* para dar el compuesto del título como una mezcla de diastereoisómeros (0,7 g; relación 86:14) como un aceite amarillo claro: LCMS (Sistema C) TR = 1,29 min, ES+ve *m/z* 500 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Preparación de ejemplos

Ejemplo 1: Ácido (*S*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico y Ejemplo 2 ácido (*R*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico

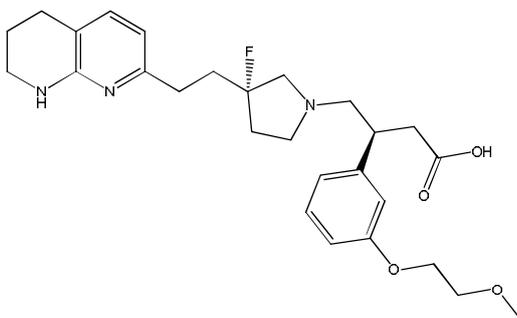


4-(3-Fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de (*S,E*)-metilo (Intermedio 8) (101,4 mg, 0,292 mmoles), KOH 3,8M (ac) (0,230 mL, 0,876 mmoles) y ácido (3-(2-metoxietoxi)fenil)borónico (compuesto (IV) de Enamine LLC) (172 mg, 0,876 mmoles) se disolvieron en 1,4-dioxano (2 mL) y la disolución se desgasificó. Se suspendieron [Rh(COD)Cl]<sub>2</sub> (7,20 mg, 0,015 mmoles) y (*R*)-BINAP (21,81 mg, 0,035 mmoles) en 1,4-dioxano (2 mL) y se desgasificaron. La primera disolución de los reactivos se añadió entonces a la última disolución de catalizador en nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó y se agitó (50°C 2 h). La mezcla se cargó entonces en un cartucho SCX (10 g) (pre-acondicionado con MeOH 1CV, MeCN 1CV), se lavó con DMSO 10CV, MeCN 4CV, y se eluyó con NH<sub>3</sub> 2M en MeOH (4CV). La fracción básica se evaporó a presión reducida. El residuo se secó a alto vacío durante 12 h para dar 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoato de (*S*)-metilo (Compuesto (II)) (131,3 mg, 93%).

Este metiléster, Compuesto (II) se disolvió entonces en THF (2 mL) y se añadió LiOH 1M acuoso (1,459 mL, 1,459 mmoles). La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. LCMS mostró hidrólisis completa al ácido carboxílico y se añadió HCl 2M (0,876 mL, 1,751 mmoles) y la disolución se cargó en un cartucho SCX (10 g) (preacondicionado con MeOH 1CV, MeCN 1CV), se lavó con MeCN 4CV, y se eluyó con NH<sub>3</sub> 2M en MeOH (4CV). La fracción básica se evaporó a presión reducida para dar el producto en bruto como una goma (127 mg, 90%). El HPLC quiral analítico TR = 9,0 min, 88% y TR = 13,8 min, 12% en una columna Chiralcel OJ-H (4,6 mm de di x 25 cm) eluyendo con EtOH al 60% (que contenía 0,2% de isopropilamina)-heptano, caudal = 1,0 mL/min, detectando a 215 nm. La mezcla diastereoisomérica de compuestos de Fórmula (I) se separó por HPLC quiral preparativo en columna Chiralcel OJ-H (3 cm x 25 cm) eluyendo con EtOH al 60%-heptano, caudal = 30 mL/min, detectando a 215 nm para dar los dos diastereoisómeros individuales del *compuesto del título*.

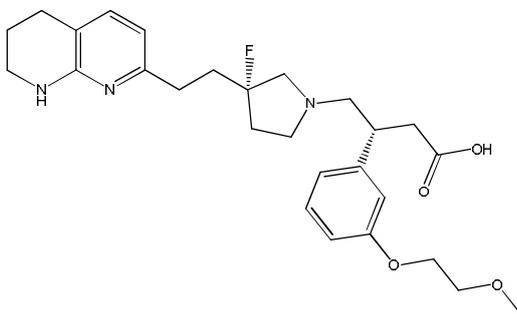
Ejemplo 1 (78 mg, 55%): HPLC quiral analítico TR = 9,0 min, 98,7% en una columna Chiralcel OJ-H (4,6 mm de di x 25 cm) eluyendo con EtOH al 60% (que contiene 0,2% de isopropilamina)-heptano, caudal = 1,0 mL/min, detectando a 215 nm; LCMS (Sistema D) TR = 0,52 min, 100%, ES+ve *m/z* 486 (M+H)<sup>+</sup> y (Sistema C) TR = 0,81 min, 92%, ES+ve *m/z* 486 (M+H)<sup>+</sup> <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 8,45 (br s, 1H), 7,21 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,86-6,73 (m, 3H), 6,31 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,12 (t, *J* = 4,4 Hz, 2H), 4,08 (br s, 1H), 3,75 (td, *J* = 4,7, 0,8 Hz, 2H), 3,73-3,68 (m, 1H), 3,47 (br s, 2H), 3,46 (d, *J* = 1,1 Hz, 2H), 3,42 (br t, *J* = 5,1 Hz, 2H), 3,00-2,85 (m, 2H), 2,82-2,75 (m, 1H), 2,70-2,66 (m, 1H), 2,63-2,57 (m, 1H), 2,73-2,55 (m, 3H), 2,49 (q, *J* = 9,1 Hz, 1H), 2,45 (dd, *J* = 11,9, 3,7 Hz, 1H), 2,23-1,97 (m, 4H), 1,95-1,80 (m, 3H), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +51 (c = 0,72 en etanol).

La configuración absoluta de los centros asimétricos del Ejemplo 1 se determinó y se encontró que el compuesto era ácido (*S*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico (véase a continuación).



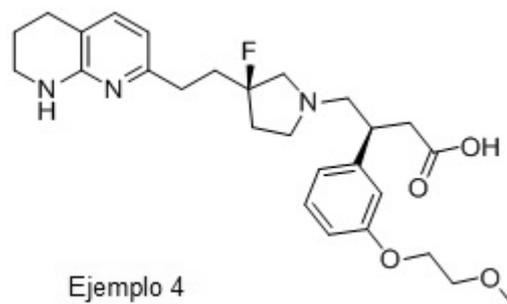
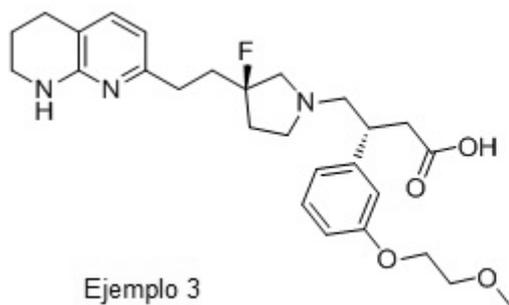
Ejemplo 2 (10 mg, 7%): HPLC quiral analítico TR = 12,5 min, >99,5% en una columna Chiralcel OJ-H (4,6 mm de di x 25 cm) eluyendo con EtOH al 60% (que contiene 0,2% de isopropilamina)-heptano, caudal = 1,0 mL/min, detectando a 215 nm; LCMS (Sistema C) TR = 0,82 min, 84%, ES+ve *m/z* 486 (M+H)<sup>+</sup>. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -28 (c = 0,50 en etanol).

La configuración absoluta de los centros asimétricos del Ejemplo 2 se determinó y se encontró que el compuesto era de forma estructural ácido (*R*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico



Ejemplo 3. Ácido (*R*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico y

Ejemplo 4. Ácido (S)-1-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico



5 A una disolución de 4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoato de metilo (Intermedio 13) (100 mg, 0,200 mmoles) en metanol (1 mL) se añadió disolución acuosa de hidróxido sódico (2M, 0,500 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se aciduló a pH 7 usando ácido clorhídrico 2M. La disolución se diluyó con agua (10 mL), se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL), las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron (MgSO<sub>4</sub>). El disolvente se eliminó *al vacío* dando un cristal incoloro ligeramente pegajoso (62 mg, 64%): LCMS (Sistema A) TR = 0,8 min, ES+ve *m/z* 486 (M+H)<sup>+</sup>. HPLC quiral analítico TR = 7,4 min, 16% y TR = 11,8 min, 84% en una columna Chiralcel OJ (250 mm x 4,6 mm), eluyendo con EtOH al 60%-heptano, caudal 1, mL/min, detectando a 215 nm. Los diastereoisómeros se separaron por HPLC quiral preparativo en una columna Chiralcel OJ-H (250 mm x 30 mm) eluyendo con EtOH al 50% en heptano, caudal 30 mL/min, para dar los dos diastereoisómeros como Ejemplos 3 y 4.

15 Ejemplo 3 (6 mg, 6%): LCMS (Sistema C) TR = 0,80 min, 94%, ES+ve *m/z* 486 (M+H)<sup>+</sup>; HPLC quiral analítico TR = 7,2 min, >99,5% en una columna Chiralcel OJ (250 mm x 4,6 mm), eluyendo con EtOH al 60%-heptano, caudal 1 mL/min, detectando a 215 nm. Ácido (R)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

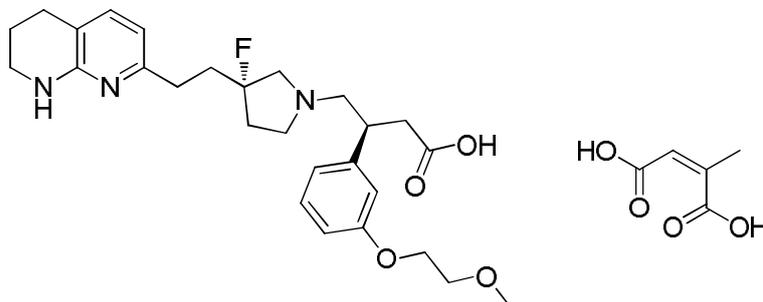
20 Ejemplo 4 (33 mg, 34%): LCMS (Sistema C) TR = 0,80 min, 100%, ES+ve *m/z* 486 (M+H)<sup>+</sup>; HPLC quiral analítico TR = 11,8 min, >99,5% en una columna Chiralcel OJ (250 mm x 4,6 mm), eluyendo con EtOH al 60%-heptano, caudal 1 mL/min, detectando a 215 nm. Ácido (S)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

Ejemplo 5. Sal de maleato de ácido 5-(S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico

25 Se añadió MeCN (100 µL) a ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico (Ejemplo 1) (112,7 mg) y se calentó a 60°C. A la disolución, se añadió ácido maleico (sólido, ~1 equivalente, 26,82 mg) junto con semillas de sal de maleato de ácido (S)-4-(S)-3-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico que se describe en nuestra solicitud de patente presentada el mismo día que esta actual solicitud, y que se incorpora aquí por referencia, y la disolución se dejó a 60° durante 3 h. La disolución se enfrió en una etapa desde 60°C a 5°C dejando una hora cada 5°C y se agitó a 5°C durante ~16 h. Los sólidos se aislaron por filtración al vacío y se secaron al aire durante 15 min. El rendimiento de sal de maleato cristalina fue ~41% (57,3 mg).

35 Se añadió MeCN (300 µL) a ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico (Ejemplo 1) (298,54 mg) a temperatura ambiente. A la disolución, se añadió ácido maleico (sólido, ~1 equivalente, 71,05 mg). La suspensión se calentó a 60°C para obtener una disolución clara. Se añadieron semillas de sal de maleato (obtenidas anteriormente), pero las semillas se disolvieron. La disolución se mantuvo a 60°C durante una hora y se enfrió lentamente a ~53°C y se volvió a sembrar. Las semillas se disolvieron pero lentamente. La disolución se enfrió lentamente a 5°C lo que llevó a una suspensión espesa. A la suspensión, se añadió di-isopropiléter (900 µL) y se agitó a temperatura ambiente durante dos días. Los sólidos se aislaron por filtración al vacío, se lavaron con di-isopropiléter, se secaron al aire durante una hora y se secaron en un horno de vacío a 40°C toda la noche. El rendimiento de la sal de maleato cristalino fue (352,9 mg, 95%).

Ejemplo 6. Sal de citraconato de ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico



Se añadió acetonitrilo anhidro (0,1 mL) a ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico (Ejemplo 1) (505 mg, 1,04 mmoles) que se disolvió a temperatura ambiente. Se añadió ácido citracónico (28,4 mg, 0,218 mmoles) (disponible de Sigma) y la suspensión se calentó a 60°C para obtener una disolución amarilla clara, después se enfrió a ~50°C y se dejó allí durante 5 min. La disolución se enfrió a 40°C y después se sembró con la sal de maleato (Ejemplo 5) sin agitación. La mezcla se dejó en el frigorífico toda la noche y después se trató con diisopropiléter (0,75 mL) – se observaron dos capas y se devolvió al frigorífico (~3 a 4°C) durante 1 h, seguido por 1 h en el congelador (-22 a -20°C) y se devolvió al frigorífico durante 4 días. La precipitación/cristalización había ocurrido y el líquido se eliminó mediante pipeta, y el sólido se secó al aire toda la noche para dar el compuesto del título (99 mg, 77%) como un sólido cristalino blanco. <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, D<sub>2</sub>O) 7,53-7,50 (m, 1H), 7,39-7,35 (m, 1H), 7,01-6,98 (m, 1H), 6,97-6,94 (m, 2H), 6,57-6,55 (m, 1H), 5,84-5,82 (m, 1H), 4,21-4,18 (m, 2H), 3,81-3,79 (m, 2H), 3,77-3,69 (m, 1H), 3,68-3,61 (m, 2H), 3,66-3,57 (m, 2H), 3,52-3,42 (m, 1H), 3,44-3,41 (m, 2H), 3,41 (s, 3H), 3,44-3,40 (m, 1H), 2,87-2,77 (m, 2H), 2,77-2,74 (m, 2H), 2,66-2,61 (m, 1H), 2,57-2,52 (m, 1H), 2,44-2,35 (m, 1H), 2,29-2,17 (m, 1H), 2,28-2,16 (m, 2H), 2,01-1,97 (m, 3H), 1,91-1,86 (m, 2H); punto de fusión 103°C (DSC).

#### Ensayos biológicos

##### Ensayos de adhesión celular

Los reactivos y métodos utilizados fueron como se describe [Ludbrook et al, *Biochem. J.* 2003, 369, 311 y Macdonald et al. *ACS MedChemLett.* 2014, 5, 1207-1212 para el ensayo de  $\alpha_v\beta_8$ ], con los siguientes puntos de clarificación. Se usaron las siguientes líneas celulares, con los ligandos en paréntesis: K562- $\alpha_5\beta_1$  (Fibronectina), K562- $\alpha_v\beta_3$  (LAP-b<sub>1</sub>), K562- $\alpha_v\beta_5$  (Vitronectina), K562- $\alpha_v\beta_6$  (LAP-b<sub>1</sub>), K562- $\alpha_v\beta_8$  (LAP-b<sub>1</sub>). El catión divalente usado para facilitar la adhesión fue MgCl<sub>2</sub> 2 mM. La adhesión se cuantificó por marcaje celular con el tinte fluorescente BCECF-AM (Life Technologies), donde las suspensiones celulares a 3x10<sup>6</sup> células/mL se incubaron con 0,33 mL/mL de BCECF-AM 30 mM a 37°C durante 10 minutos, después 50  $\mu$ L/pocillo se dispensaron en la placa de ensayo de 96 pocillos. A la conclusión del ensayo las células que se adhirieron se lisaron usando 50  $\mu$ L/pocillo de Triton X-100 al 0,5% en H<sub>2</sub>O para liberar la fluorescencia. La intensidad de fluorescencia se detectó usando un lector de placas Envision® (Perkin Elmer). Para antagonistas activos en el ensayo, los datos se ajustaron a una ecuación logística de 4 parámetros para determinaciones de CI<sub>50</sub>.

La afinidad (pCI<sub>50</sub>) para el Ejemplo 1 en los Ensayos de Adhesión celular fue para: pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_6$ = 7,9; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_3$ = 7,4; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_5$ = 7,4; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_8$ = 7,5; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_1$ = 6,4.

La afinidad (pCI<sub>50</sub>) para el Ejemplo 2 en los Ensayos de Adhesión celular fue para: pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_6$ = 6,2; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_3$ = 5,9; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_5$ = 6,6; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_8$ = 5,8.

La afinidad (pCI<sub>50</sub>) para el Ejemplo 3 en los Ensayos de Adhesión celular fue para: pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_6$ = 5,4; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_3$ = 5,6; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_5$ = 5,0; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_8$ = 5,3

La afinidad (pCI<sub>50</sub>) para el Ejemplo 4 en los Ensayos de Adhesión celular fue para: pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_6$ = 7,7; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_3$ = 6,3; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_5$ = 6,9; pCI<sub>50</sub> de  $\alpha_v\beta_8$ = 7,3.

Las figuras citadas son valores medios de pCI<sub>50</sub>.

##### 40 Permeabilidad en células MDCK

Se determinó la permeabilidad de la membrana pasiva del Ejemplo 1 y el Ejemplo 4 (ambos como zwitterión), en células de resistencia multifármaco 1 de riñón canino de Madin-Darby (MDCKII-MDR1), a pH 7,4 en presencia del potente inhibidor de P-glicoproteína GF120918. Cada compuesto se incubó por duplicado a una concentración de 3  $\mu$ M en cada ocasión de ensayo. En este ensayo la permeabilidad aparente pasiva (P<sub>app</sub>) del Ejemplo 1 fue 71 nm/s ( $\pm$  23 nm/s; n = 3 ocasiones de ensayo) y para el Ejemplo 4 fue 17 nm/s (n = 2 ocasiones de ensayo).

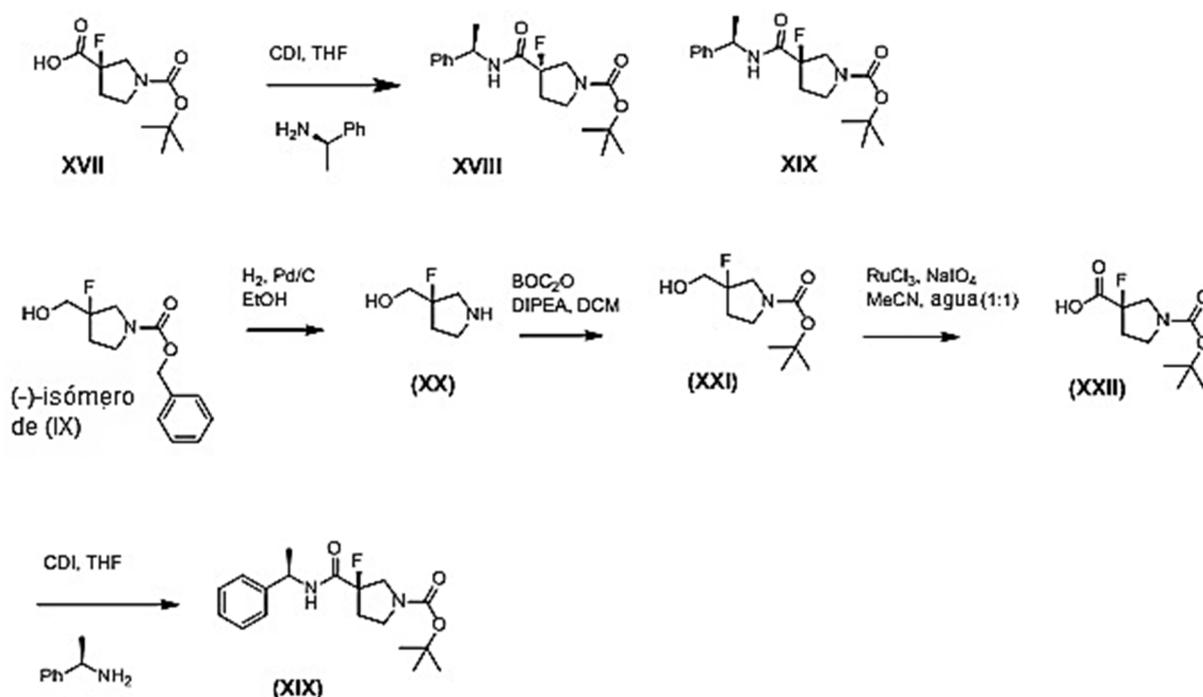
Se observó que aunque los dos Ejemplo 1 y Ejemplo 4 diastereoisoméricos, tenían afinidad similar *in vitro* en el ensayo de adhesión celular de  $\alpha_5\beta_6$  ( $pCl_{50}$  del Ejemplo 1 = 7,9;  $pCl_{50}$  del Ejemplo 4 = 7,7) tenían diferente permeabilidad en células MDCK (Ejemplo 1 P = 71 nm/s y Ejemplo 4 P = 17 nm/s). Esto se espera que esté reflejado por el Ejemplo 1 que tiene mayor disponibilidad oral que el Ejemplo 4 *in vivo* en estudios farmacocinéticos.

## 5 Identificación de la configuración absoluta de los compuestos de fórmula estructural (I)

Identificación de la configuración absoluta del centro asimétrico de 3-fluoropirrolidina

La síntesis de las moléculas diana (IA) comenzó de forma separada con cada enantiómero de intermedio de fórmula estructural (IX). Los enantiómeros de (IX) se compraron de Wuxi App Tec. El 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (+)-bencilo proporcionó el diastereoisómero de (IA) con la mayor afinidad (Ejemplo 1 Isómero A). La configuración absoluta de 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (+)-bencilo (IX) sin embargo no se conocía, y los siguientes experimentos delineados en el Esquema III se asumieron para establecer su configuración.

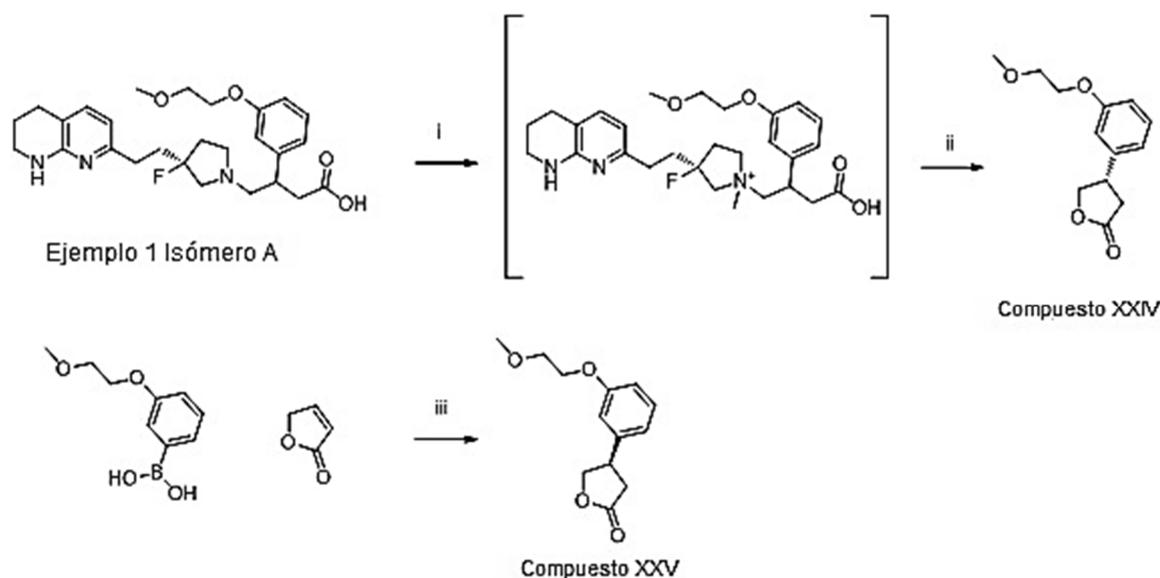
Una mezcla racémica de ácido 1-(*tert*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidina-3-carboxílico (XVII) [Número de Registro de Resumen Químico 1001754-59-1] (disponible de Wuxi App Tec) se convirtió a la *N*- $\alpha$ -metilbencilamida por reacción del ácido (XVII) con primero carbonildiimidazol (CDI), seguido por (+)-(*R*)- $\alpha$ -metilbencilamina. Esto proporcionó una mezcla diastereoisomérica de amidas (Esquema 3, compuestos XVIII y XIX), separables por cromatografía en gel de sílice (P.K. Mykhailiuk et al. Convenient synthesis of enantiopure (*R*) – and (*S*)-3-fluoro-3-aminomethylpyrrolidines, *Tetrahedron* 2014, 70, 3011-3017). La configuración del isómero más polar se estableció independientemente tanto por Mykhailiuk y nosotros por estudios de difracción de rayos X y mostró que era 3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (*S*)-*tert*-butilo [compuesto (XVIII)] (Figura 1), y por tanto para el isómero menos polar como 3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (*R*)-*tert*-butilo [compuesto (XIX)]. Además este proporcionó materiales de referencia para la comparación con el compuesto obtenido por la secuencia mostrada en el Esquema III. Aunque nuestros datos de rayos X en el isómero polar [compuesto (XVIII)] estaba de acuerdo con la estructura cristalina de rayos X presentada por Mykhailiuk et al., el espectro de  $^1H$  RMN difirió del espectro que obtuvimos. Los espectros para los dos diastereoisómeros [compuestos (XVIII) y (XIX)] fueron muy similares; sin embargo, hubo una pequeña diferencia de diagnóstico para el protón C4 de tiroidina. Lo observamos a 2,22 ppm. Esto se presentó por Mykhailiuk que estaba a 2,15 ppm. El (-)-enantiómero del compuesto de fórmula estructural (IX) [3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (-)-bencilo], que proporcionó el diastereoisómero de (IA) Ejemplo 2 (Isómero 1) se hidrogenó sobre Pd al 10%/C en etanol para eliminar el grupo protector CBZ, y la amina (XX) resultante protegida con dicarbonato de di-*tert*-butilo para dar 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (-)-*tert*-butilo (XXI). El último se oxidó con tricloruro de rutenio y peryodato sódico en acetonitrilo-agua. El ácido carboxílico (XXII) resultante se convirtió entonces a la amida como antes usando CDI y (+)-(*R*)- $\alpha$ -metilbencilamina. Esta amida se comparó con las muestras de amida de referencia (XVIII) y (XIX) y se encontró que era idéntica por espectroscopia RMN, rotación óptica y HPLC quiral a 3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (*R*)-*tert*-butilo (XIX). Como el (-)-enantiómero de (IX) usado en esta secuencia es el isómero que proporciona diastereoisómeros (IA3) y (IA4) (Ejemplo 2) entonces el (+)-enantiómero de (IX), que proporcionó (IA1) e (IA2) (Ejemplo 1) tiene la configuración absoluta (*S*) en el centro asimétrico de tiroidina.



Esquema III. Identificación de la configuración absoluta del centro asimétrico de 3-fluoropirrolidina.

Identificación de la configuración absoluta del centro asimétrico bencílico.

La configuración absoluta del centro asimétrico bencílico del Ejemplo 1 Isómero A se obtuvo mediante el experimento de degradación en el Esquema IV. Así, el Ejemplo 1 Isómero A se trató con yoduro de metilo en DCM a temperatura ambiente toda la noche para cuaternizar el nitrógeno de tiroidina y entonces se añadió carbonato de potasio, se calentó a 120°C durante 1 h en un reactor de microondas para dar (S)-(+)-4-(3-(2-metoxietoxi)fenil)dihidrofuran-2-(3H)-ona (Compuesto XXIV). El producto de degradación se comparó con la auténtica (R)-(-)-4-(3-(2-metoxietoxi)fenil)dihidrofuran-2-(3H)-ona (Compuesto XXV) preparada por adición de ácido (3-(2-metoxietoxi)fenil)borónico a furan-2(5H)-ona usando tetrafluoroborato de bis(norbornadieno)rodio (I) como el catalizador y (R)-BINAP como el ligando quiral usando la clásica reacción asimétrica de Hayashi (Hayashi, T. *Tetrahedron Asymmetry*, 1999, 10, 4047-4056) y se muestra que es el enantiómero del producto de degradación, estableciendo así la configuración del Ejemplo 1 isómero A en su centro bencílico como (S).



Esquema IV. Reactivos y condiciones: i) MeI, DCM, temperatura ambiente, 18 h; ii) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 120°C, 1 h; iii) tetrafluoroborato de bis(norbornadieno)rodio (I) y (R)-BINAP, KOH, 1,4-dioxano, 100°C, 1 h.

En base a los experimentos anteriores para identificar la configuración absoluta de cada centro asimétrico en compuesto de fórmula estructural (I) la configuración absoluta de cada Ejemplo se resume como sigue:

El Ejemplo 1 es el compuesto de fórmula estructural (IA2) ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

El Ejemplo 2 es el compuesto de fórmula estructural (IA1) (R)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

El Ejemplo 2 es el compuesto de fórmula estructural (IA1) ácido (R)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

El Ejemplo 3 es el compuesto de fórmula estructural (IA3) ácido (R)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

El Ejemplo 4 es el compuesto de fórmula estructural (IA4) ácido (S)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

#### Parte experimental

3-Fluoro-3-(((R)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo (compuesto XVIII) y 3-fluoro-3-(((R)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (R)-*terc*-butilo (Compuesto XIX).

Una disolución de ácido (±)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidina-3-carboxílico (compuesto XVII) [1001754-59-1] (disponible de Wuxi App Tec) (3,00 g, 12,9 mmoles) en THF (70 mL) se trató a temperatura ambiente con CDI sólido (2,5 g, 15,4 mmoles) y después la mezcla se calentó a 80°C durante 1,5 h. Se añadió (R)-(+)- $\alpha$ -metilbencilamina (disponible de Fluka) (1,6 g, 13,2 mmoles) a esta temperatura y después la mezcla se calentó durante una 1,5 h adicionales a 80°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl diluido, NaHCO<sub>3</sub>, salmuera, se secó

(MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se dejó evaporar lentamente a temperatura ambiente. La mezcla se concentró finalmente a presión reducida ya que no cristalizó sólido. El residuo se purificó por cromatografía en cartuchos de sílice (2x100 g) eluyendo con EtOAc al 0-25%-ciclohexano durante 40 min. El compuesto que eluye primero se obtuvo como una espuma blanca (1,54 g, 36%): LCMS (Sistema A) TR = 1,17 min, ES+ve *m/z* 337 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1,43-1,49 (m, 9H), 1,54 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 2,08-2,19 (m, 1H), 2,37-2,62 (m, 1H), 3,43-3,56 (m, 1H), 3,61-3,93 (m, 3H), 5,14 (quin, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,71-6,76 (m, 1H), 7,27-7,39 (m, 5H) contiene aproximadamente 10% del diastereoisómero más polar; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +61 (c = 1,27 en MeOH); HPLC Quiral Analítico TR = 7,58 min, 90%, y TR = 9,53 min, 10% en una columna Chiralpak AD (250 mm x 4,6 mm), eluyendo con EtOH al 10%-heptano, caudal = 1 mL/min, detectando a 215 nm. Una parte de 50 mg de esta muestra se purificó adicionalmente en un cartucho de sílice (20 g) eluyendo con EtOAc al 0-25%-ciclohexano durante 20 min. La fracción apropiada se evaporó a presión reducida para dar una muestra analíticamente pura (30 mg) de 3-fluoro-3(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (*R*)-*terc*-butilo (compuesto XIX) LCMS (Sistema C) TR = 1,16 min, ES+ve *m/z* 337 (M+H)<sup>+</sup> y 354 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup> y ES-ve *m/z* 335 (M-H); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +63 (c = 0,933 en MeOH).

El segundo compuesto que eluye de la columna (diastereoisómero más polar) (1,2 g, 28%) se cristalizó a partir de éter para dar cristales blancos de 3-fluoro-3(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (*S*)-*terc*-butilo (compuesto XVIII): pf = 113-115°C; LCMS (Sistema C) TR = 1,16 min, ES+ve *m/z* 337 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1,43-1,48 (m, 9H), 1,54 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 2,14-2,26 (m, 1H), 2,44-2,70 (m, 1H), 3,46-3,55 (m, 1H), 3,56-3,87 (m, 3H), 5,14 (quin, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,73 (br s, 1H), 7,27-7,40 (m, 5H); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +73 (c = 0,876 en MeOH); HPLC Quiral Analítico TR = 9,50 min, 100% en una columna Chiralpak AD (250 mm x 4,6 mm) eluyendo con EtOH al 10%-heptano, caudal = 1 mL/min, detectando a 215 nm. La configuración absoluta de este diastereoisómero se estableció a partir de un estudio de difracción de rayos X.

(-)-(*R*)-(3-Fluoropirrolidin-3-il)metanol (Compuesto XX)

Una disolución de (-)-*N*-CBZ-3-fluoro-3-(hidroximetil)tiroidina, (-)-isómero del compuesto (IX), (disponible de Wuxi App Tec) (4,0 g, 15,8 mmoles) se hidrogenó sobre Pd al 10%/C (400 mg) en etanol (150 mL) toda la noche. El catalizador se eliminó por filtración a través de celite y se lavó con etanol. El filtrado y los lavados se evaporaron a presión reducida para dar el compuesto del título (2,0 g, 106%, contiene algo de etanol por RMN) como un aceite amarillo, que solidificó en un sólido ceroso: LCMS (Sistema C) TR = 0,22 min, ES+ve *m/z* 120 (M+H)<sup>+</sup> y ES-ve *m/z* 118 (M-H). El producto se secó adicionalmente en una unidad de purga bajo nitrógeno a 40°C. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3,82 (dd, *J* = 18,7, 12,5 Hz, 1H), 3,73 (dd, *J* = 22,0, 12,2 Hz, 1H), 3,22-3,15 (m, 1H), 3,23-3,14 (m, 1H), 2,99-2,92 (m, 1H), 2,91 (dd, *J* = 29,1, 13,2 Hz, 1H), 2,66 (br s, 2H), 2,10-1,98 (m, 1H), 1,94-1,81 (m, 1H); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -4 (c = 1,19 en EtOH).

3-Fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (-)-(*R*)-*terc*-butilo (compuesto XXI)

Una disolución de (*R*)-(3-fluoropirrolidin-3-il)metanol (compuesto XX) (1,88 g, 15,8 mmoles) en DCM (15 mL) y diisopropiltilamina (4,13 mL, 23,7 mmoles) se trató con dicarbonato de di-*terc*-butilo (3,79 g, 17 mmoles) y la mezcla se agitó a 20°C durante 3 h. La mezcla se repartió entre HCl 2M y DCM y se separó en un cartucho separador de fase. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en un cartucho de sílice (70 g) eluyendo con un gradiente de EtOAc de 0-50%-ciclohexano durante 40 min. Las fracciones se chequearon por TLC en sílice (EtOAc al 50%-ciclohexano) y se tiñeron con disolución de KMnO<sub>4</sub>. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron a presión reducida para dar el compuesto del título (2,73 g, 79%) como un aceite incoloro: LCMS (Sistema C) TR = 0,79 min, ES+ve *m/z* 220 (M+H)<sup>+</sup> y 439 (2M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 1,42 (s, 9H), 1,96-2,14 (m, 2H), 3,32-3,41 (m, 2H), 3,42-3,50 (m, 2H), 3,54-3,61 (m, 1H), 3,62-3,69 (m, H), 4,90 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -28 (c = 3,51 en CHCl<sub>3</sub>).

3-Fluoro-3(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (*R*)-*terc*-butilo (compuesto XIX)

Una disolución de 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de (-)-*terc*-butilo (compuesto XXI) (200 mg, 0,9 mmoles) en MeCN (1 mL) y agua (1 mL) se trató con RuCl<sub>3</sub> (9,5 mg, 0,05 mmoles) y peryodato sódico (976 mg, 4,5 mmoles) y la mezcla se agitó a 20°C durante 16 h. La mezcla se aciduló con HCl 1M (5 mL) y se repartió en DCM. La fase acuosa se extrajo de nuevo dos veces con DCM y las fases se separaron en un cartucho de separación de fase. La disolución orgánica se evaporó en una unidad de purga para dar ácido (*R*)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidina-3-carboxílico (compuesto XXII) (125 mg, 59%): MS ES-ve *m/z* 232 (M-H). El ácido (125 mg, 0,54 mmoles) se disolvió en acetato de etilo (10 mL) y se trató con CDI (360 mg, 2,2 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y después se calentó a 50°C durante 0,5 h. La mezcla se concentró en una unidad de purga, el residuo se disolvió en THF (6 mL) y se trató con (*R*)-(+)-α-metilbencilamina (200 mg, 1,9 mmoles) y se agitó a 20°C durante 1,5 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con disolución de HCl 2M dos veces, seguido por salmuera. La disolución orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó a presión reducida para dar un sólido gris (290 mg). El residuo se disolvió en MeOH-DMSO (1:1; 3 mL) y se purificó por MDAP en una columna XSELECT CSH C18 (150 mm x 30 mm de d.i. diámetro de empaquetado de 5 μm) a temperatura ambiente, eluyendo con un gradiente de 30-85% (bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con disolución de amoniaco acuoso-acetonitrilo) funcionando durante 30 min, detectando a 254 nm y recogiendo el pico con TR = 17,4 min, ES+ve *m/z* 337 (M+H)<sup>+</sup>. La fracción se concentró en una unidad de purga a 45°C en nitrógeno y la suspensión residual se extrajo con EtOAc. La disolución orgánica se lavó con HCl 2M dos veces y después con salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó a presión reducida para dar una goma amarilla (35 mg). La goma se purificó de nuevo por MDAP en una columna XBridge C18 (100 mm x 19 mm de

d.i. diámetro de empaquetado de 5  $\mu\text{m}$ ) a temperatura ambiente eluyendo con un gradiente de (bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con disolución de amoniaco acuoso – acetonitrilo) funcionando durante 25 min, detectando 254 nm) recogiendo la primera fracción (TR = 10 min). El disolvente se eliminó en una unidad de purga en nitrógeno a 45°C para dar el compuesto del título (16 mg, 5%) como una goma incolora: LCMS (Sistema C) TR = 1,16 min, ES+ve  $m/z$  337 (M+H)<sup>+</sup>, 354 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>; HPLC Quiral Analítico TR = 7,58 min, 97,7% en una columna Chiralpak AD (250 mm x 4,6 mm) eluyendo con EtOH al 10%-heptano, caudal = 1 mL/min, que detecta a 215 nm;  $[\alpha]_D^{20}$  +63 (c = 1,15 en MeOH). El espectro de <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) además de la rotación óptica y el TR de HPLC quiral todos combinan con los de 3-fluoro-3-(((R)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de (R)-*terc*-butilo (compuesto XIX).

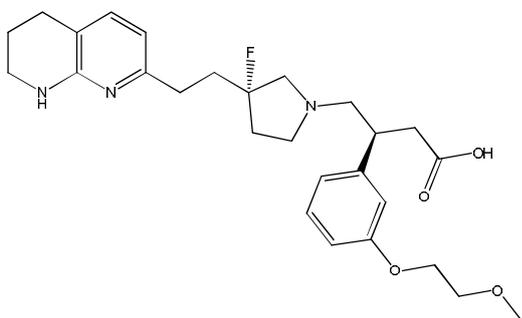
10 Determinación de la configuración absoluta del centro asimétrico bencílico del Ejemplo 1 por degradación a (S)-(+)-4-(3-(2-metoxietoxi)fenil)dihidrofuran-2(3H)-ona (Compuesto XXIV)

Una disolución de ácido 4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico (Ejemplo 1 (200 mg, 0,412 mmoles) en DCM (20 mL) se trató con yodometano (0,400 mL, 6,40 mmoles) a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró *al vacío* para eliminar el exceso de yodometano, el sólido residual se disolvió de nuevo en DCM (10 mL) y después se añadió carbonato de potasio (250 mg, 1,809 mmoles). La mezcla de reacción se calentó en un reactor de microondas a 120°C durante 1 h. La disolución se filtró y se concentró *al vacío* y el aceite residual se purificó por cromatografía en una columna de sílice (10 g) eluyendo con un gradiente de TBME al 0-100% en ciclohexano, detectando a 220 nm. Las fracciones relevantes se concentraron *al vacío* proporcionando (S)-(+)-4-(3-(2-metoxietoxi)fenil)dihidrofuran-2(3H)-ona (compuesto XXIV) (80 mg, 82%) como un aceite incoloro: LCMS (Sistema B) TR = 0,80 min, 100%, ES+ve  $m/z$  237 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,34-7,26 (m, 1H), 6,92-6,72 (m, 3H), 4,67 (dd,  $J$  = 9,0, 7,9 Hz, 1H), 4,28 (dd,  $J$  = 9,1, 8,1 Hz, 1H), 4,20-4,10 (m, 2H), 3,84-3,72 (m, 3H), 3,48 (s, 3H), 2,93 (dd,  $J$  = 17,5, 8,7 Hz, 1H), 2,68 (dd,  $J$  = 17,5, 9,0 Hz, 1H);  $[\alpha]_D^{22}$  = +42 (c = 1,06 en CHCl<sub>3</sub>); HPLC Quiral TR = 9,72 min, 100% en una columna Chiralpak AD (250 mm x 4,6 mm) eluyendo con EtOH al 40% en heptano, caudal = 1 mL/min, detectando a 215 nm.

25 Síntesis de (R)-(-)-4-(3-(2-metoxietoxi)fenil)dihidrofuran-2(3H)-ona auténtica (Compuesto XXV) para la comparación con el Compuesto (XXIV)

A una disolución de tetrafluoroborato de bis(norbornadieno)rodio (I) (disponible de Aldrich) (37,4 mg, 0,100 mmoles), (R)-BINAP (125 mg, 0,200 mmoles) y ácido (3-(2-metoxietoxi)fenil)borónico (disponible de Enamine) (980 mg, 5,00 mmoles) en 1,4-dioxano (10 mL) se añadió furan-2(5H)-ona (disponible de Alfa Aesar) (0,142 mL, 2,0 mmoles) y KOH acuoso (3,8 M, 1,053 mL, 4,00 mmoles). La disolución resultante se calentó a 100°C durante 1 h en un reactor de microondas. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se repartió entre agua (20 mL) y DCM (20 mL). Las fases se separaron y la fase orgánica se pasó a través de una frita hidrófoba y se concentró *al vacío*. El aceite residual se purificó por cromatografía en una columna KPNH (50 g) eluyendo con un gradiente de TBME de 0-100% en ciclohexano durante 45 min, detectando a 220 nm. Las fracciones relevantes se concentraron *al vacío* para dar el compuesto del título (101 mg, 21%) como un aceite incoloro: LCMS (Sistema B) TR = 0,80 min, 100%, ES+ve  $m/z$  237 (M+H)<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{23}$  = -37 (c = 1,10 en CHCl<sub>3</sub>); HPLC Quiral TR = 11,82 min, 94% y TR = 9,67 min, 6% en una columna Chiralpak AD (250 mm x 4,6 mm) eluyendo con EtOH al 40% en heptano, caudal = 1 mL/min, detectando a 215 nm, que indica que el compuesto del título es el enantiómero del compuesto (XXIV).

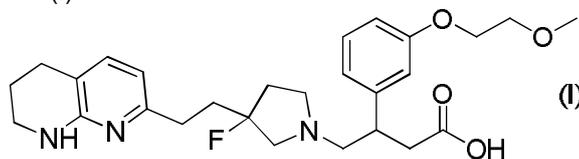
40 Por tanto: El Ejemplo 1 es ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico



Y el Ejemplo 2 es ácido (R)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

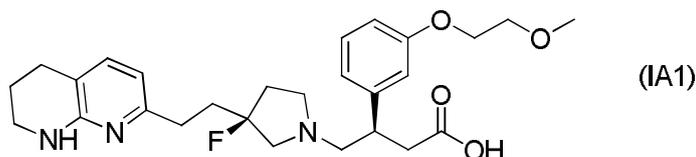
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):

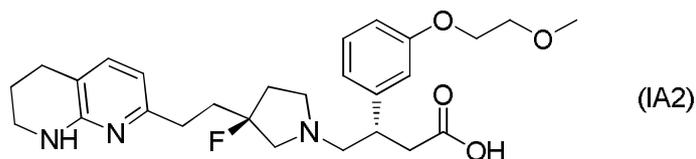


5 que es ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

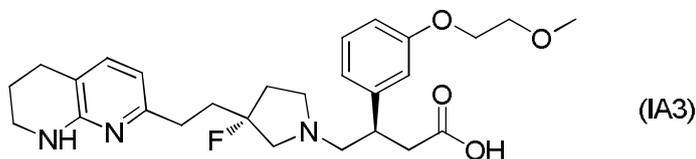
2. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que tiene una fórmula seleccionada de la fórmula (IA1), (IA2), (IA3) o (IA4):



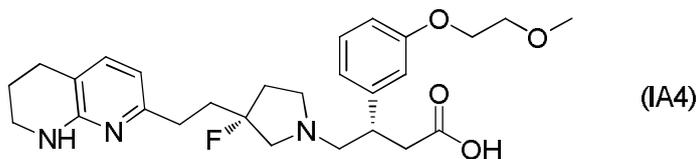
10 que es ácido (R)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico;



que es ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico;



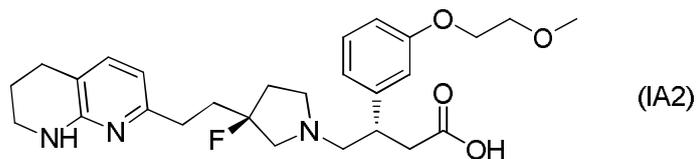
15 que es ácido (R)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico; y



que es ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico;

20 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

3. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que tiene una fórmula



que es ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 4. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que es sal maleato de ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-

(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-(2-metoxietoxi)fenil)butanoico.

5. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia.
- 5 6. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de una enfermedad fibrótica.
7. Un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable para uso según la reivindicación 6, en donde la enfermedad fibrótica es una fibrosis pulmonar.
8. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de fibrosis pulmonar idiopática.
- 10 9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
10. Una composición farmacéutica según la reivindicación 8 en una forma adaptada para la administración oral.
- 15 11. Una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y al menos otro agente farmacéuticamente activo.
12. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 11, para uso en terapia.
13. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 11, o una combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el otro agente farmacéuticamente activo es un inhibidor de la síntesis de TGF $\beta$ , por ejemplo pirfenidona.
- 20 14. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 11, o una combinación de uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el otro agente farmacéuticamente activo es nintedanib (BIBF-1120).
15. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 11, o una combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el otro agente farmacéuticamente activo es un anticuerpo anti- $\alpha$ v $\beta$ 6.

**Figura 1.** La estructura cristalina por rayos X del compuesto (XVIII)