

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 525**

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/EP2015/071777**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.2016 WO16046226**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.09.2015 E 15767476 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.10.2018 EP 3197893**

54 Título: **Derivados de naftiridina como antagonistas de integrina $\alpha_v\beta_6$ para el tratamiento de, por ejemplo, enfermedades fibróticas**

30 Prioridad:

26.09.2014 GB 201417011

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

18.03.2019

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 2 704 525 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 naftiridina como antagonistas de integrina $\alpha_v\beta_6$ para el tratamiento de, por ejemplo, enfermedades fibróticas

Campo de la invención

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

Antecedentes de la invención

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

20 Los receptores de integrinas interaccionan con las proteínas de unión por medio de las interfases de unión proteína-proteína cortas. La familia de las integrinas se puede agrupar en subfamilias que comparten motivos de reconocimiento de unión similares en dichos ligandos. Una subfamilia principal son las integrinas RGD, que reconocen los ligandos que contienen un motivo RGD (arginina-glicina-ácido aspártico) dentro de la secuencia de proteína. Existen 8 integrinas en esta subfamilia, a saber, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$, $\alpha_{11b}\beta_3$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_8\beta_1$, 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 α_v común con una subunidad β divergente, y $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$ y $\alpha_8\beta_1$ comparten una subunidad β_1 común con una subunidad α divergente. Se ha demostrado que la subunidad β_1 se empareja con 11 subunidades α diferentes, de las que solo las 3 enumeradas anteriormente reconocen comúnmente el motivo peptídico RGD (Humphries *et al.*, *Journal of Cell Science*, **2006**, 119, 3901).

30 Las 8 integrinas de unión a RGD tienen diferentes afinidades y especificidades de unión para diferentes ligandos que contienen RGD. Los ligandos incluyen proteínas tales como fibronectina, vitronectina, osteopontina y los péptidos asociados a la latencia (LAP) del factor de crecimiento transformante β_1 y β_3 (TGF β_1 y TGF β_3). Se ha demostrado que la unión de integrinas a los LAP de TGF β_1 y TGF β_3 en varios sistemas permite la activación de las actividades biológicas de TGF β_1 y TGF β_3 , y las posteriores biología activadas por TGF β (Worthington *et al.*, *Trends in Biochemical Sciences*, **2011**, 36, 47). La diversidad de dichos ligandos, acoplados con los patrones de expresión de las 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), reestenosis y otras enfermedades con un componente angiogénico (Weis *et al.*, *Cold Spring. Harb. Perspect. Med.* **2011**, 1, a 006478).

40 Se ha descrito en la bibliografía un número significativo de antagonistas de integrina α_v (Goodman *et al.*, *Trends in Pharmacological Sciences*, **2012**, 33, 405) incluyendo anticuerpos inhibidores, péptidos y moléculas pequeñas. Para los anticuerpos, estos incluyen los antagonistas de pan- α_v intetumumab y abituzumab (Gras, *Drugs of the Future*, **2015**, 40, 97), el antagonista selectivo de $\alpha_v\beta_3$ etaracizumab, y los antagonistas selectivos de $\alpha_v\beta_6$ STX-100. La cilengtida es un antagonista peptídico cíclico que inhibe tanto $\alpha_v\beta_3$ como $\alpha_v\beta_5$ y el 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 diferentes combinaciones de integrinas α_v permite que se generen agentes novedosos personalizados para indicaciones de enfermedades específicas.

50 La fibrosis pulmonar representa la fase terminal de varias enfermedades pulmonares intersticiales, incluyendo neumonías intersticiales idiopáticas, y se caracteriza por el depósito excesivo de matriz extracelular dentro del intersticio pulmonar. Entre las neumonías intersticiales idiopáticas, la fibrosis pulmonar idiopática (IPF, en inglés) representa la afección más común y más mortal con una supervivencia típica de 3 a 5 años después del diagnóstico. La fibrosis en IPF es, en general, progresiva, resistente a la intervención farmacológica actual y lleva inexorablemente a una insuficiencia respiratoria debida a la obstrucción de las unidades alveolares funcionales. La IPF afecta aproximadamente a 500 000 personas en EE. UU. y Europa.

55 Existen datos inmunohistoquímicos experimentales *in vitro* en animales y pacientes con IPF, que apoyan un papel clave para la integrina restringida epitelialmente, $\alpha_v\beta_6$, en la activación de TGF β_1 . La expresión de esta integrina es baja en los tejidos epiteliales normales y se regula por incremento significativamente en epitelios lesionados e inflamados incluyendo el epitelio activado en la IPF. Seleccionar esta integrina como objetivo, por tanto, reduce la posibilidad teórica de interferencia con papeles homeostáticos más amplios del TGF β . Se ha demostrado que la

inhibición parcial de la integrina $\alpha_v\beta_6$ por bloqueo de anticuerpos evita la fibrosis pulmonar sin empeorar la inflamación (Horan GS *et al.*, «Partial inhibition of integrin $\alpha_v\beta_6$ prevents pulmonary fibrosis without exacerbating inflammation». *Am J Respir Crit Care Med* **2008**, 177: 56-65). Aparte de la fibrosis pulmonar, también se considera la $\alpha_v\beta_6$ un promotor importante de enfermedad fibrótica de otros órganos, incluyendo el hígado y el riñón (revisado en Henderson NC *et al.*, «Integrin-mediated regulation of TGF β in Fibrosis», *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease* **2013**, 1832:891-896), lo que sugiere que un antagonista de $\alpha_v\beta_6$ podría ser eficaz en el tratamiento de enfermedades fibróticas en múltiples órganos.

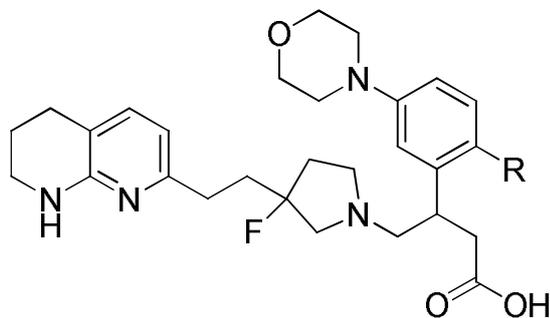
Acorde con la observación de que varias integrinas de unión a RGD pueden unirse a TGF β y activarse, recientemente se han implicado diferentes integrinas α_v en la enfermedad fibrótica (Henderson NC *et al.* «Targeting of α_v integrin identifies a core molecular pathway that regulates fibrosis in several 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- β 1 activation by human cardiac fibroblast contraction», *Cardiovasc Res* **2014**, 102:407-417; Minagawa S *et al.*, «Selective targeting of TGF- β activation to treat fibroinflammatory airway disease», *Sci Transl Med* **2014**, vol. 6, edición 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, edición 288: 1-8). Por lo tanto, los inhibidores frente a miembros específicos de la familia de las integrinas de unión a RGD, o con huellas identificativas con selectividad específica dentro de la familia de las integrinas de unión a RGD, pueden ser eficaces en el tratamiento de enfermedades fibróticas en múltiples órganos.

Se han descrito relaciones SAR (relaciones estructura-actividad, en inglés) de una serie de antagonistas de integrina frente a $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$ y $\alpha_v\beta_8$ (Macdonald, SJF *et al.* «Structure activity relationships of α_v integrin antagonists for pulmonary fibrosis by variation in aryl substituents». *ACS Med Chem Lett* **2014**, 5, 1207-1212. 19 de septiembre de 2014).

Es deseable proporcionar antagonistas de $\alpha_v\beta_6$ que puedan tener también actividades frente a otras integrinas α_v , tales como $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_5$ o $\alpha_v\beta_8$.

Breve compendio de la invención

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo, más en particular un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde R representa H o F.

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales tienen actividad antagonista de $\alpha_v\beta_6$ y se cree que tienen uso potencial para el tratamiento o la profilaxis de ciertos trastornos. El término actividad antagonista de $\alpha_v\beta_6$ incluye actividad inhibidora de $\alpha_v\beta_6$ en la presente memoria.

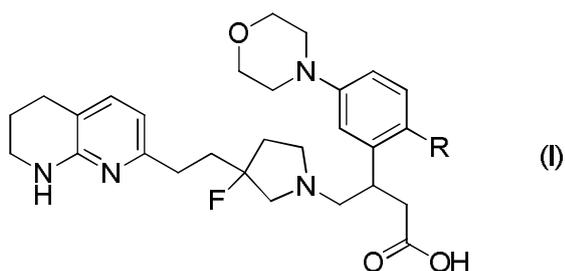
En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

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

En un cuarto 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 afección para la que está indicado un antagonista del receptor de integrina $\alpha_v\beta_6$.

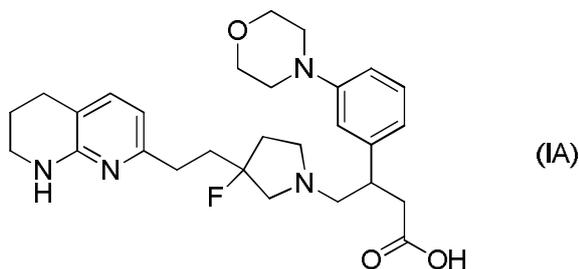
Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo:



en donde R representa H o F.

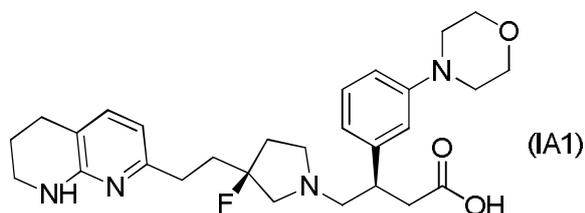
Un compuesto de fórmula (I) es el ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico (IA) o una sal del mismo:



5

En una realización, el compuesto de fórmula (IA) es una sal farmacéuticamente aceptable del ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico.

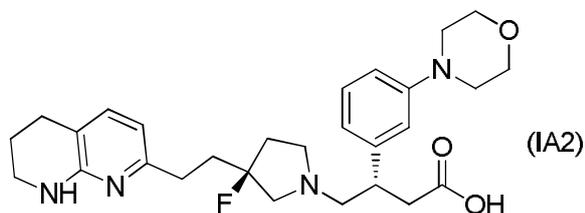
En una realización, el compuesto de fórmula (IA) tiene la fórmula (IA1):



10

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

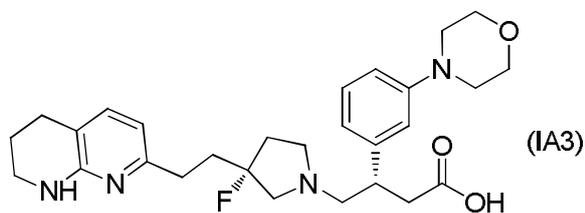
En otra realización, el compuesto de fórmula (I) tiene la fórmula (IA2):



15

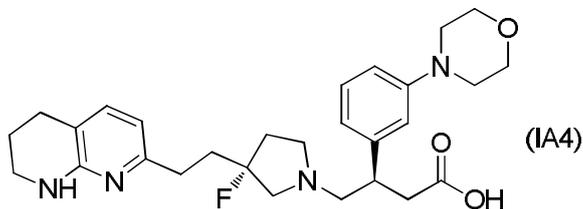
ácido (*S*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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



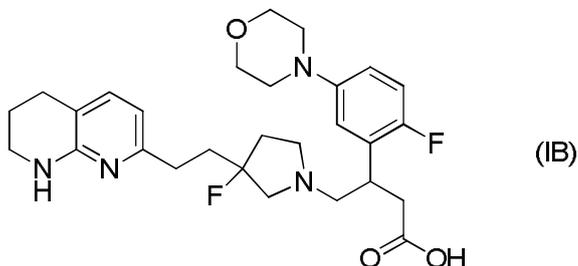
ácido (S)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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



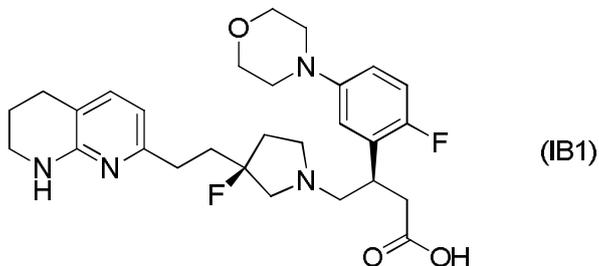
5 ácido (R)-4-((R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro compuesto de fórmula (I) es el ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico (IB) o una sal del mismo:



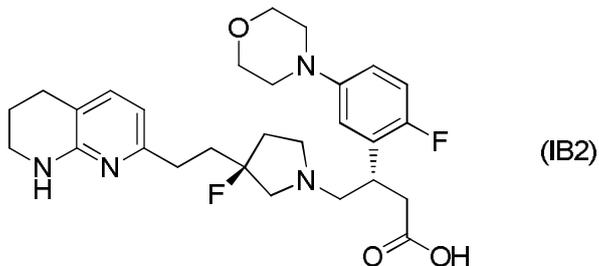
10 En una realización, el compuesto de fórmula (IB) es una sal farmacéuticamente aceptable del ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico.

En una realización, el compuesto de fórmula (IB) tiene la fórmula de (IB1):



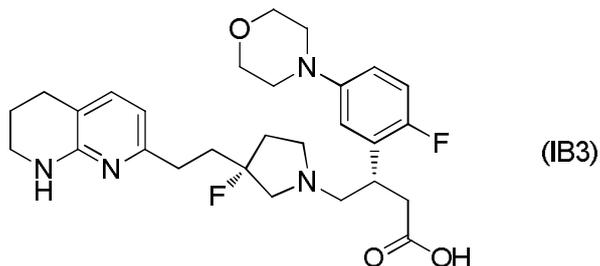
15 ácido (R)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto de fórmula (IB) tiene la fórmula (IB2):



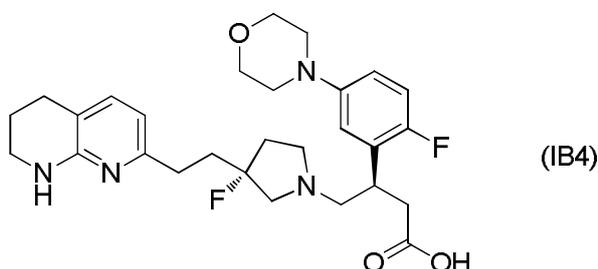
ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto de fórmula (IB) tiene la fórmula (IB3):



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

5 En otra realización, el compuesto de fórmula (IB) tiene la fórmula (IB4):



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

10 Los compuestos de fórmula (I) tienen tanto un grupo amino básico como un grupo ácido carboxílico y, por consiguiente, pueden formar una sal interna, es decir, un zwitterión o sales internas. Por lo tanto, en una realización, el compuesto de fórmula (I) es el ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico o el ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico o uno cualquiera de los compuestos IA1, IA2, IA3, IA4, IB1, IB2, IB3 o IB4 en forma de sal zwitteriónica. En otra realización, el compuesto de fórmula (I) es el ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico o el ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico o uno cualquiera de los compuestos IA1, IA2, IA3, IA4, IB1, IB2, IB3 o IB4 en forma no zwitteriónica.

20 Se apreciará que la presente invención cubre los compuestos de fórmula (I) como compuesto precursor, como zwitterión (el compuesto precursor está protonado internamente por su grupo ácido carboxílico y existe normalmente como zwitterión) y como sales de los mismos, por ejemplo como una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En una realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

25 Para una revisión sobre 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/Zurich: Wiley- VCH/VHCA, 2002. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de ácido con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido ortofosfórico, ácido nítrico, ácido fosfórico o ácido sulfúrico, o con ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido málico, ácido succínico, ácido salicílico, ácido maleico, ácido glicerosulfónico, tartárico, benzoico, glutámico, aspártico, bencenosulfónico, naftalenosulfónico tales como ácido 2-naftalenosulfónico, ácido hexanoico o ácido acetilsalicílico. Los ácidos particularmente adecuados son los ácidos fumárico y maleico. Típicamente, se puede preparar fácilmente una sal farmacéuticamente aceptable usando un ácido o una base deseados según sea apropiado. La sal resultante puede precipitar de la solución y recogerse por filtración o puede recuperarse por evaporación del disolvente.

35 Se pueden usar otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, formiatos, oxalatos o trifluoroacetatos, por ejemplo en el aislamiento de los compuestos de fórmula (I), y están incluidas dentro del alcance de esta invención.

40 Se puede formar una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable 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 usualmente se aísla, por ejemplo, por cristalización y filtración. Las sales básicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amonio,

sales de metales alcalinos tales como las de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como las de calcio y magnesio, y sales con bases orgánicas, incluyendo sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitlohexilamina y N-metil-D-glucamina.

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

10 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 están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) pueden caracterizarse y diferenciarse usando varias técnicas analíticas convencionales, incluyendo patrones de difracción en polvo de rayos X (XRPD), espectros de infrarrojo (IR), espectros Raman, calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y resonancia magnética nuclear de estado sólido (SSNMR) (todas por sus siglas en inglés), pero sin limitarse a estas.

15 Los compuestos de fórmula (I) también se pueden preparar como una dispersión molecular amorfa en una matriz polimérica, tal como acetato-succinato de hidroxipropilmetilcelulosa, usando un procedimiento de dispersión secada por pulverización (SDD) para mejorar la estabilidad y la solubilidad de la sustancia farmacológica.

20 Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que reaccionen o en los que precipiten o cristalicen. Estos complejos se conocen como «solvatos». Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un «hidrato». Pueden usarse para formar solvatos disolventes con altos puntos de ebullición y/o capaces de formar enlaces de hidrógeno, tales como agua, xileno, N-metilpirrolidinona, metanol y etanol. Los métodos para la identificación de solvatos incluyen, RMN y microanálisis, pero no se limitan a estos. Se apreciará que las formas cristalinas pueden estar opcionalmente solvatadas para formar, por ejemplo, solvatos farmacéuticamente aceptables, tales como hidratos que pueden ser hidratos estequiométricos así como 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.

25 Los compuestos descritos en la presente memoria contienen dos centros asimétricos de modo que se pueden formar isómeros ópticos, por ejemplo, diastereoisómeros y enantiómeros. De acuerdo con esto, la presente invención abarca isómeros de los compuestos de fórmula (I), ya sea como isómeros individuales aislados tales como para estar sustancialmente exentos del otro isómero (es decir, puros) o como mezclas. Se puede aislar un isómero individual aislado para que esté sustancialmente exento del otro isómero (es decir, puro) de modo que esté presente menos de un 10 %, en particular menos de aproximadamente un 1 %, por ejemplo menos de aproximadamente un 0,1 % del otro isómero.

30 Los expertos en la materia entenderán que ciertos diastereoisómeros pueden ser menos activos que otros y que la actividad de un diastereoisómero individual puede estar por debajo de un límite seleccionado.

35 La separación de los isómeros se puede lograr por técnicas convencionales conocidas para los expertos en la materia, 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 tautómeras. Se entenderá que la presente invención abarca todos los tautómeros de los compuestos de fórmula (I) ya sea como tautómeros individuales o como mezclas de los mismos.

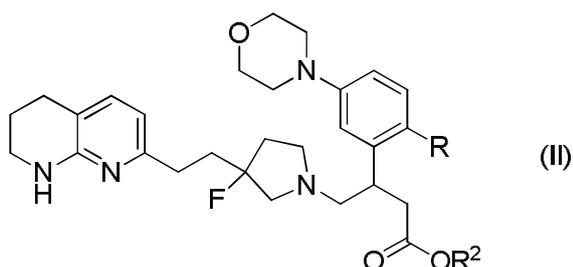
40 Se apreciará de lo anterior que dentro del alcance de la invención están incluidos solvatos, isómeros y formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

Preparación de compuestos

45 Los compuestos de la invención se pueden fabricar por varios métodos, incluyendo química estándar. Cualquier variable definida previamente seguirá teniendo el significado definido previamente a menos que se indique de otro modo. Se exponen a continuación métodos sintéticos generales ilustrativos y después se preparan compuestos específicos de la invención en los ejemplos de trabajo.

Los expertos en la materia apreciarán que la descripción de (*E*) o (*Z*) de algunos compuestos intermedios que pueden existir como dos isómeros geométricos, puede contener el otro isómero geométrico como componente secundario.

50 Los compuestos de fórmula estructural (I) se pueden preparar por un procedimiento que implica en primer lugar la desprotección de un compuesto de fórmula estructural (II), es decir, escisión del grupo éster, seguido opcionalmente de la conversión en una sal:



donde R^2 es un grupo alquilo C_1-C_6 , por ejemplo un grupo *terc*-butilo, etilo o metilo. De forma alternativa, R^2 es un alcohol quiral, por ejemplo (-)-mentol [(1*R*,2*S*,5*R*)-2-isopropil-5-metilciclohexanol].

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

5 La desprotección del compuesto de fórmula estructural (II), donde R^2 es metilo, etilo, un alcohol quiral tal como mentol o *terc*-butilo, puede llevarse a cabo por hidrólisis ácida usando, por ejemplo, ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico o trifluoroacético, en un disolvente inerte, tal como diclorometano, 2-metiltetrahidrofurano, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano o éter ciclopentilmetílico o agua.

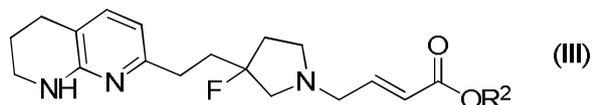
10 De forma alternativa, la desprotección del compuesto de fórmula estructural (II), donde R^2 es metilo, etilo o un alcohol quiral tal como mentol, se puede llevar a cabo por hidrólisis básica usando, por ejemplo, hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio en un disolvente adecuado, por ejemplo, un disolvente acuoso tal como metanol acuoso.

Después de la escisión del grupo éster, el producto resultante se puede convertir en la sal requerida por métodos conocidos para los expertos en la materia.

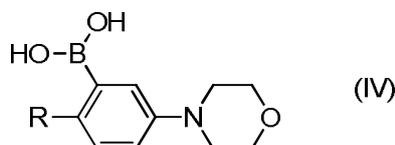
15 En una realización, la conversión del zwitterión en la sal fumarato se logra por tratamiento de una solución etanólica del zwitterión con una solución etanólica de ácido fumárico, calentando la solución salina resultante a 40 °C y dejando que se enfríe a 5 °C para que se produzca la cristalización.

En otra realización, la conversión del zwitterión en la sal maleato se logra por tratamiento de una solución de acetonitrilo del zwitterión con una solución acuosa de ácido maleico, calentando la solución resultante a 40 °C y dejando que se enfríe a 5 °C para que se produzca la cristalización.

20 Los compuestos de fórmula estructural (II) se pueden obtener a partir de los compuestos de fórmula estructural (III):



donde R^2 es como se definió anteriormente, por reacción con un compuesto de ácido borónico de fórmula estructural (IV), donde R es H o F:



25 De forma alternativa, se puede usar un éster de boronato, tal como éster de pinacol, lo que proporciona el ácido borónico precursor *in situ*. Los compuestos de fórmula estructural (IV) están comercialmente disponibles, por ejemplo, de Enamina 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 las fórmulas estructurales (III) y (IV) puede realizarse en presencia de un catalizador adecuado, tal como un 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), preferentemente en presencia de una base, tal como hidróxido de potasio acuoso, a temperatura elevada, tal como de 50 °C a 95 °C, y en un disolvente miscible en agua, tal como 1,4-dioxano. Preferentemente, se lleva a cabo la reacción en condiciones estrictamente anaerobias, donde se purga la mezcla de reacción con un gas inerte tal como nitrógeno, y se evacúa a presión reducida, repitiendo este procedimiento de evacuación y purgando con nitrógeno tres veces. De forma alternativa, se puede llevar a cabo la reacción en un vial de microondas y se calienta la mezcla en un reactor de microondas a temperatura elevada. Esta reacción produce una mezcla de isómeros, normalmente en la proporción 1 : 1. Puede separarse la mezcla de isómeros producidos por cromatografía, HPLC o por cristalización. Se puede lograr una síntesis asimétrica por la inclusión de un enantiómero del ligando quiral, por ejemplo (*R*)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftilo (*R*-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 isómero (*E*) o mezcla

30

35

40

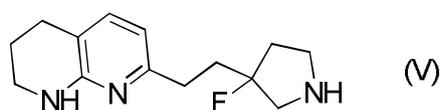
de isómeros (*E*) y (*Z*), preferentemente isómero (*E*) puro.

La reacción entre un enantiómero de un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV) produce dos diastereoisómeros, en proporción aproximadamente 1 : 1, que se pueden separar por cristalización, cromatografía o por HPLC. El método preferente de separación es HPLC quiral en un soporte quiral, tal como columnas Chiralpak o Chiralcel. La proporción de los diastereoisómeros formados se puede incrementar sustancialmente a, por ejemplo, aproximadamente 80 : 20 o mayor en presencia de aproximadamente un 10 % de aditivos, tales como (*R*)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno [(*R*)-BINAP], lo que proporciona como isómero principal el diastereoisómero biológicamente más activo.

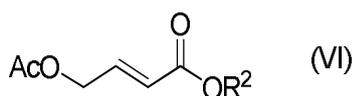
De forma alternativa, varias combinaciones del compuesto (III) con diferentes grupos R² quirales, ligando, ácido borónico (IV), catalizador y disolvente seleccionados por los expertos en la materia o por examen de un gran número de combinaciones, pueden proporcionar una mayor proporción de diastereoisómeros.

La proporción diastereoisómera se puede incrementar además a, por ejemplo, más de 99 : 1, por HPLC quiral o por cristalización.

Los compuestos de fórmula estructural (III) se pueden obtener a partir de los compuestos de fórmula estructural (V):



por reacción con un compuesto de fórmula estructural (VI)

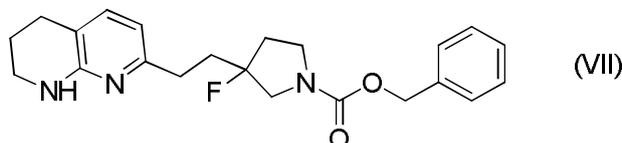


20 donde R² es como se definió anteriormente, en presencia de una base orgánica tal como N,N-diisopropiletilamina («DIPEA») y un catalizador a base de paladio adecuado, por ejemplo PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II), complejado con diclorometano, en un disolvente tal como diclorometano. El compuesto de fórmula (V) se puede usar como compuesto precursor, o se puede generar *in situ* a partir de una sal, tal como la sal diclorhidrato, en presencia de una base de amina terciaria.

25 Los compuestos de fórmula estructural (VI) se pueden preparar por métodos descritos en la presente memoria. A modo de ilustración, el compuesto de fórmula estructural (VI), donde R² es metilo, y teniendo el doble enlace la geometría (*E*), se puede preparar por el método mostrado a continuación, partiendo del 4-bromocrotonato de metilo comercialmente disponible y acetato de sodio o potasio en acetonitrilo a temperatura elevada, por ejemplo, 50 °C:

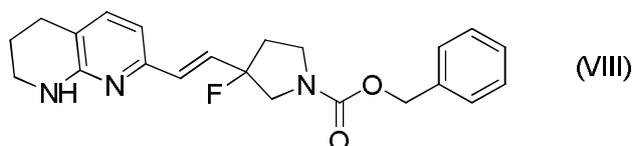


Los compuestos de fórmula estructural (V) se pueden preparar a partir de los compuestos de fórmula estructural (VII):



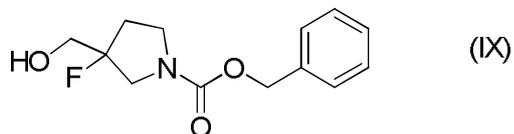
por hidrogenolisis catalítica usando, por ejemplo, un catalizador de paladio depositado sobre carbón, en un disolvente inerte, tal como etanol o acetato de etilo.

Los compuestos de fórmula estructural (VII) se pueden obtener a partir de compuestos de fórmula estructural (VIII):

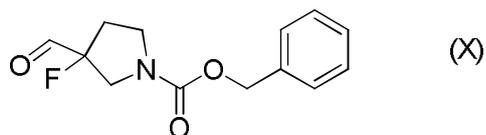


por reducción de diimida, generada, por ejemplo, a partir de bencenosulfonilhidrazida en presencia de una base, tal como carbonato de potasio, en un disolvente adecuado, tal como DMF, y a temperatura elevada, tal como 130 °C.

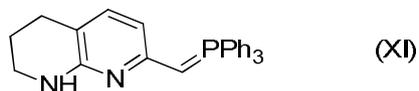
Los compuestos de fórmula estructural (VIII) existen como isómeros geométricos, por ejemplo, forma (*E*) o (*Z*) y se pueden usar como isómeros puros o bien como mezclas. Los compuestos de fórmula estructural (VIII) se pueden obtener partiendo de compuestos comercialmente disponibles conocidos (por ejemplo,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



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

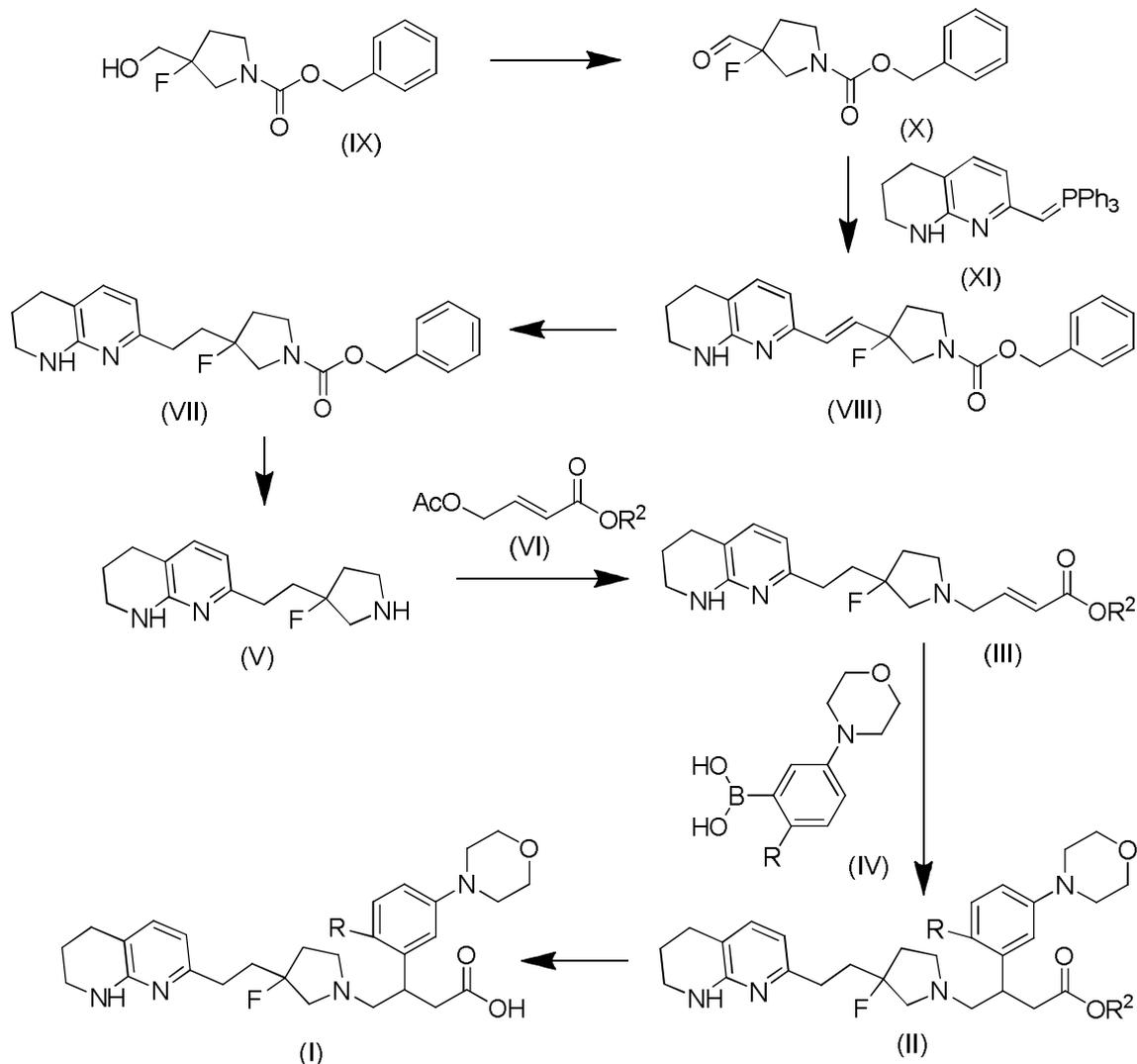


Este compuesto de fórmula estructural (X) se puede hacer reaccionar a continuación, lo que puede realizarse sin aislamiento del compuesto de fórmula (X), con un iluro de fórmula estructural (XI):

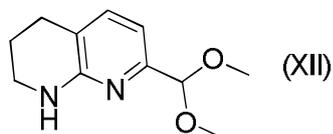


para formar de este modo el compuesto de fórmula (VIII) que existe como una mezcla de isómeros geométricos (*E*) y (*Z*). Los expertos en la materia apreciarán que existen otros métodos para formar el compuesto de fórmula (VIII) a partir del aldehído (X). Los isómeros geométricos se pueden separar por cromatografía o se pueden usar en la siguiente etapa como una mezcla. Este esquema global para la preparación de compuestos de fórmula estructural (I) se resume a continuación como el esquema (I):

Esquema (I):

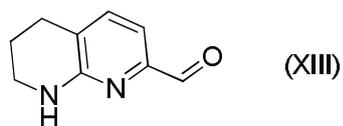


Los iluros de fórmula estructural (XI) se pueden preparar partiendo de los compuestos de fórmula (XII) (disponibles de Fluorochem):



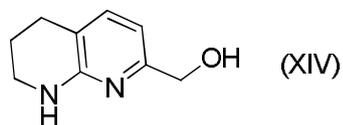
5

que por reacción con ácido clorhídrico en primer lugar, seguido de neutralización con bicarbonato de sodio, se pueden convertir a continuación en un aldehído de fórmula estructural (XIII):

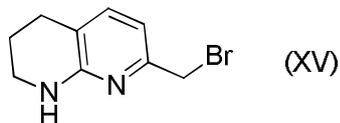


10

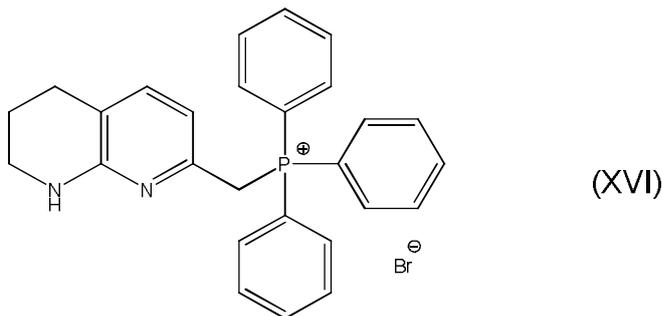
que se puede reducir, por ejemplo, usando borohidruro de sodio al correspondiente alcohol de fórmula estructural (XIV):



(Véanse también las rutas descritas en la Patente de EE. UU. A-20040092538 para la preparación del alcohol de fórmula (XIV)) que se puede bromar a continuación, por ejemplo, usando tribromuro de fósforo para producir el correspondiente compuesto de bromo de fórmula estructural (XV):



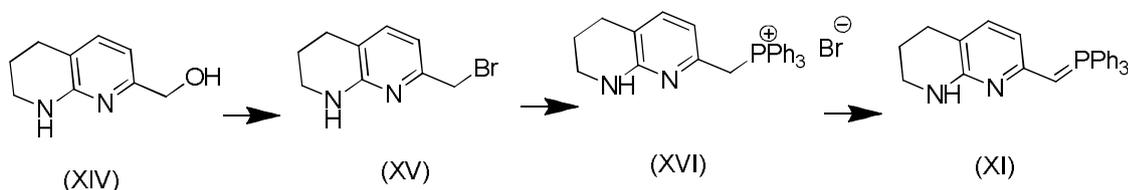
5 que se puede convertir en el bromuro de trifetilfosfonio (XVI) haciéndolo reaccionar con trifetilfosfina en un disolvente tal como acetonitrilo.



10 El compuesto de iluro mencionado anteriormente de fórmula estructural (XI) se puede obtener por reacción del compuesto de fórmula estructural (XVI) con una base, tal como una solución de *tert*-butóxido de potasio en un disolvente inerte, tal como THF. El iluro de fórmula estructural (XI) se puede aislar o preferentemente se puede formar *in situ* y hacerse reaccionar en el mismo recipiente con un aldehído de fórmula estructural (X) sin aislamiento previo.

El esquema global para la preparación del iluro de fórmula estructural (XI) se resume a continuación como el esquema (II):

Esquema (II)



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

20 Se apreciará que cualquiera de las rutas descritas anteriormente puede ser ventajosa para proteger uno o más grupos funcionales. Se pueden encontrar ejemplos de grupos protectores y de los medios para su retirada en T. W. Greene, *Protective groups in organic synthesis* (3ª edición, J. Wiley and Sons, 1999). Los grupos protectores de amina adecuados incluyen acilo (por ejemplo, acetilo), carbamato (por ejemplo, 2',2',2'-tricloraetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o *t*-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo, bencilo), que se pueden retirar 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 retirada reductora de un grupo 2',2',2'-tricloraetoxicarbonilo usando cinc en ácido acético) según sea apropiado. Otros grupos protectores de amina adecuados incluyen trifluoroacetilo (-COF₃) que se puede retirar por hidrólisis catalizada por bases.

30 Se apreciará que en cualquiera de las rutas descritas anteriormente, se puede variar el orden preciso de las etapas sintéticas por las que se introducen en la molécula varios grupos y restos. Estará dentro de la habilidad del experto en la materia asegurar que los grupos o restos introducidos en una fase del procedimiento no se vean afectados por las posteriores transformaciones y reacciones, y seleccionar el orden de las etapas sintéticas de acuerdo con esto.

También se cree que determinados compuestos de fórmulas (III), (V) a (VIII), (X), (XI), (XV) y (XVI) son novedosos y, por lo tanto, forman otro aspecto adicional de la invención.

35 La configuración absoluta de los compuestos de fórmula (I) se puede obtener siguiendo una síntesis enantioselectiva independiente a partir de un compuesto intermedio de configuración absoluta conocida. De forma alternativa, un compuesto enantioméricamente puro de fórmula (I) se puede convertir en un compuesto con una configuración absoluta que sea conocida. En cualquier caso, se puede usar una comparación de los datos espectroscópicos, rotación

óptica y tiempos de retención en una columna de HPLC analítica para confirmar la configuración absoluta. Cuando sea posible, una tercera opción es la determinación de la configuración absoluta a través de cristalografía de rayos X.

Métodos de uso

5 Se cree que los compuestos de fórmula (I) y las sales de los mismos tienen actividad antagonista de integrina α_v , en particular actividad del receptor de $\alpha_v\beta_6$, y por tanto tienen una utilidad potencial en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un antagonista de $\alpha_v\beta_6$.

10 Por tanto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la terapia. El compuesto de fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección para la que está indicado un antagonista de integrina $\alpha_v\beta_6$.

Por tanto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección para la que está indicado un antagonista de integrina $\alpha_v\beta_6$.

15 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 afección para la que está indicado un antagonista de integrina $\alpha_v\beta_6$.

De forma adecuada, el sujeto que lo necesita es un mamífero, en particular un ser humano.

20 Como se usa en la presente memoria, el término «cantidad eficaz» quiere decir una cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que está buscando, por ejemplo, un investigador o un médico. Además, el término «cantidad terapéuticamente eficaz» quiere decir cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado una mejora en el tratamiento, curación, prevención o mejoría de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución en la velocidad de avance de una enfermedad o trastorno. El término también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal.

25 Las enfermedades fibróticas implican la formación de un exceso de tejido conjuntivo fibroso en un órgano o tejido en un proceso reparador o reactivo. Se cree que los antagonistas de $\alpha_v\beta_6$ son útiles en el tratamiento de varias de dichas enfermedades o afecciones incluyendo las dependientes de la función de integrina $\alpha_v\beta_6$ y de la activación del factor de crecimiento transformante beta por medio de integrinas alfa v. Las enfermedades pueden incluir: fibrosis pulmonar (por ejemplo, fibrosis pulmonar idiopática, neumonía intersticial no específica (NINE), neumonía intersticial usual (NIU),
30 síndrome de Hermansky-Pudlak, fibrosis masiva progresiva (una complicación de la neumoconiosis de los mineros), fibrosis pulmonar relacionada con enfermedades del tejido conjuntivo, fibrosis de vías respiratorias en asma y EPOC, fibrosis asociada al SDRA (síndrome de dificultad respiratoria aguda), lesión pulmonar aguda, fibrosis inducida por radiación, fibrosis pulmonar familiar, hipertensión pulmonar); fibrosis renal (nefropatía diabética, nefropatía de IgA, nefritis lúpica, glomeruloesclerosis focal segmentaria (GEFS), nefropatía de trasplante, nefropatía autoinmunitaria,
35 nefropatía farmacógena, nefropatía relacionada con la hipertensión, fibrosis sistémica nefrogénica); fibrosis hepáticas (fibrosis inducida víricamente (por ejemplo, hepatitis C o B), hepatitis autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, hepatopatía alcohólica, esteatosis hepática no alcohólica incluyendo esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), fibrosis hepática congénita, colangitis esclerosante primaria, hepatitis farmacógena, cirrosis hepática); fibrosis cutánea (cicatriz hipertrófica, esclerodermia, queloides, dermatomiositis, fascitis eosinofílica, contractura de Dupuytren, síndrome de Ehlers-Danlos, enfermedad de La Peyronie, epidermólisis ampollosa distrófica, fibrosis submucosa oral);
40 fibrosis ocular (degeneración macular relacionada con la edad (DMRE), edema macular diabético, queratoconjuntivitis seca, glaucoma), nefelio, lesión corneal y cicatrización corneal, prevención de cicatrización de ampollas filtrantes después de cirugía de trabeculectomía; fibrosis cardíaca (insuficiencia cardíaca congestiva, aterosclerosis, infarto de miocardio, fibrosis endomiocárdica, miocardiopatía hipertrófica (MCH)) y otras afecciones fibróticas diversas (fibrosis mediastínica, mielofibrosis, fibrosis retroperitoneal, enfermedad de Crohn, neurofibromatosis, liomomas uterinos (miomas uterinos), rechazo crónico del órgano trasplantado. Existen beneficios adicionales para la inhibición adicional de las integrinas $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_5$ o $\alpha_v\beta_8$.

45 Además, también se pueden tratar lesiones precancerosas o tumores malignos asociados a integrinas $\alpha_v\beta_6$ (estos pueden incluir tumores malignos endometriales, basocelulares, hepáticos, de colon, cervicouterinos, orales, de páncreas, de mama y de ovario, sarcoma de Kaposi, tumores de células gigantes y estroma asociado a cáncer, pero sin limitarse a estos). También se pueden beneficiar las afecciones que pueden beneficiarse de los efectos sobre la angiogénesis (por ejemplo, tumores sólidos).

El término «enfermedad o afección para la que está indicado un antagonista de $\alpha_v\beta_6$ », pretende incluir cualquiera o todas las condiciones patológicas anteriores.

55 En una realización, la enfermedad o afección para la que está indicado un antagonista de $\alpha_v\beta_6$ es la fibrosis pulmonar idiopática.

En otra realización, la enfermedad o afección para la que está indicado un antagonista de $\alpha_v\beta_6$ se selecciona de nefelio, lesión corneal y cicatrización corneal.

Composiciones

5 Si bien es posible que, para su uso en la terapia, se pueda administrar un compuesto de fórmula (I), así como sales farmacéuticamente aceptables del mismo, como producto químico en bruto, es común presentar el principio activo como una composición farmacéutica.

10 Por lo tanto, la presente invención proporciona en otro aspecto 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 las sales farmacéuticamente aceptables son como se describieron anteriormente. El (los) vehículo(s), diluyente(s) o excipiente(s) debe(n) ser aceptable(s) en el sentido de ser compatible(s) con los otros principios activos de la composición y no perjudicial(es) para el receptor de los mismos.

15 De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporciona 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 su uso en el tratamiento de cualquiera de las afecciones descritas en la presente memoria.

20 Se proporciona además una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las 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.

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

25 Ya que los compuestos de fórmula (I) están destinados a su uso en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que cada uno se proporciona preferentemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo, pura al menos en un 60 %, más adecuadamente pura al menos en un 75 % y preferentemente pura al menos en un 85 %, en especial pura al menos en un 98 % (% en una base de peso por peso).

30 Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en forma de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosificación unitaria preferentes son las que contienen una dosis diaria o una subdosis, o una fracción apropiada de las mismas, de un principio activo. Dichas dosis unitarias se pueden administrar, por tanto, más de una vez al día. Las composiciones de dosificación unitaria preferentes son las que contienen una dosis diaria o subdosis (para su administración más de una vez al día), como se indicó anteriormente en la presente memoria, o una fracción apropiada de las mismas, de un principio activo.

35 Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para su administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por la vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, inhalatoria, intranasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal, ocular o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, mezclando el principio activo con el (los) vehículo(s) o excipiente(s).

En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para su administración oral.

40 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para su administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

45 Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente farmacológico activo se puede asociar con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable no tóxico, oral, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Se pueden preparar polvos adecuados para su incorporación en comprimidos o cápsulas 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. También pueden estar presentes un agente saborizante, conservante, dispersante y colorante.

50 Las cápsulas se pueden fabricar preparando una mezcla en polvo, como se describió anteriormente y rellenando las cubiertas de gelatina formadas. Se pueden añadir agentes antiapelmazantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido, a la mezcla en polvo antes de la operación de llenado. También se puede añadir un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, agentes antiapelmazantes, lubricantes, agentes edulcorantes, saborizantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, goma de tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares.

Los lubricantes usados en estas formas farmacéuticas incluyen: oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares.

Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o formando lingotes, añadiendo un lubricante y disgregante y prensando en comprimidos. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto, molido adecuadamente, con un diluyente o base como se describió anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de solución tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla en polvo se puede granular por humectación con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de Acadia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a pasar a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, se puede hacer pasar la mezcla en polvo a través de una máquina para formar comprimidos y el resultado son lingotes formados imperfectamente que se rompen en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar que se adhieran a los moldes que forman los comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime a continuación en comprimidos. Los compuestos de la presente invención también se pueden asociar con un vehículo inerte fluido y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulación o pegado. Se puede proporcionar un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en un revestimiento sellante de goma laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento pulido de cera. Se pueden añadir tintes a estos recubrimientos para distinguir dosificaciones unitarias diferentes.

Se pueden preparar fluidos orales tales como solución, jarabes y elixires en forma farmacéutica unitaria de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Se pueden preparar jarabes disolviendo el compuesto en una solución acuosa adecuadamente saborizada, mientras que se preparan elixires a través del uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Se pueden formular suspensiones dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos saborizantes tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

Cuando sea apropiado, se pueden microencapsular composiciones de unidad de dosificación para administración oral. También se puede preparar la formulación para prolongar o mantener la liberación como, por ejemplo, recubriendo o incrustando material particulado en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar en forma de sistemas de suministro de liposomas, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Se pueden formar liposomas a partir de varios fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica se pueden presentar como parches discretos destinados a permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un periodo de tiempo prolongado.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

Para tratamientos de los ojos u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las composiciones se aplican preferentemente como pomada o crema tópica. Cuando se formula en una pomada, el principio activo se puede emplear con una base de pomada parafínica o una miscible con agua. De forma alternativa, el principio activo se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite. Los compuestos de esta invención se pueden administrar como colirios tópicos. Los compuestos de esta invención se pueden administrar por medio de vías subconjuntival, intracamerar o intravítrea, lo que requeriría periodos de administración que fueran mayores que a diario.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas para los ojos incluyen colirios en donde el principio activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, en especial un disolvente acuoso. Las formulaciones que se van a administrar en los ojos tendrán pH y osmolaridad compatibles oftálmicamente. En una composición de la invención se pueden incluir uno o más agentes tamponadores y/o agentes de ajuste del pH oftálmicamente aceptables, incluyendo ácidos tales como ácidos acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio y lactato de sodio y tampones tales como citrato/dextrosa, bicarbonato de sodio y cloruro de amonio. Dichos ácidos, bases y tampones se pueden incluir en una cantidad requerida para mantener el pH de la composición en un intervalo oftálmicamente aceptable. En la composición se pueden incluir una o más sales oftálmicamente aceptables en una cantidad suficiente para llevar 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.

5 El dispositivo de suministro ocular se puede diseñar para la liberación controlada de uno o más agentes terapéuticos con múltiples velocidades de liberación y cinéticas de dosificación sostenida y permeabilidad definidas. La liberación controlada se puede obtener a través del diseño de matrices poliméricas que incorporan diferentes elecciones y propiedades de polímeros biodegradables/bioerosionables (por ejemplo, poli(etileno-acetato de vinilo) (EVA), PVA superhidrolizado), hidroxialquilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) (todos por sus siglas en inglés), policaprolactona, poli(ácido glicólico), poli(ácido láctico), polianhídrido, de pesos moleculares poliméricos, cristalinidad polimérica, proporciones copoliméricas, condiciones de procesamiento, acabado superficial, geometría, adición de excipientes y recubrimientos poliméricos que potenciarán la difusión, erosión, disolución y ósmosis del fármaco.

15 Las formulaciones para el suministro de fármaco usando dispositivos oculares pueden asociar uno o más agentes activos y adyuvantes apropiados para la vía de administración indicada. Por ejemplo, los agentes activos se pueden mezclar con cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable, lactosa, sacarosa, almidón en polvo, ésteres celulósicos de ácidos alcanóicos, ácido esteárico, talco, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, goma arábiga, gelatina, alginato de sodio, polivinilpirrolidina y/o alcohol polivinílico, comprimidos o encapsulados para su administración convencional. De forma alternativa, los compuestos se pueden disolver en polietilenglicol, propilenglicol, soluciones coloidales de carboximetilcelulosa, etanol, aceite de maíz, aceite de cacahuate, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, goma de tragacanto y/o varios tampones.

20 Los compuestos también se pueden mezclar con composiciones de polímeros tanto biodegradables como no biodegradables y un vehículo o diluyente que tenga una propiedad de retraso temporal. Los 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. Los ejemplos representativos de polímeros no biodegradables pueden

25 incluir copolímeros de EVA, caucho de silicona y poli(metilacrilato) y mezclas de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas para su suministro ocular también incluyen composición acuosa gelificable *in situ*. Una composición de este tipo comprende un agente gelificante en una concentración eficaz para promover la gelificación cuando se ponen en contacto con el ojo o con líquido lagrimal. Los agentes gelificantes adecuados incluyen polímeros termoendurecibles, pero no se limitan a estos. El término «gelificable *in situ*», como se usa en la presente

30 memoria, incluye no solo líquidos de viscosidad baja que forman geles cuando se ponen en contacto con el ojo o con líquido lagrimal, sino que también incluye líquidos más viscosos tales como geles semifluidos y tixotrópicos que presentan un incremento sustancial en la viscosidad o la rigidez del gel después de la administración en el ojo. Véase, por ejemplo, Ludwig (2005) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 3; 57:1595-639, incorporado en la presente memoria por referencia con el propósito de la explicación de los ejemplos de polímeros para su uso en el suministro ocular de fármaco.

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

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para su administración rectal se pueden presentar como supositorios o como enemas.

40 Las formas farmacéuticas para su administración nasal o inhalatoria se pueden formular convenientemente como aerosoles, soluciones, suspensiones, geles o polvos secos.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para su administración vaginal se pueden presentar como óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

45 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para su administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la composición sea isotónica con la sangre del receptor destinado y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o de múltiples dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección sin preparación

50 previa se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

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

55 Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención dependerá de varios factores incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del sujeto, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación, y la vía de administración, y en última instancia, dependerá del juicio del médico o veterinario. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación para su administración oral o parenteral contiene preferentemente de 0,01 mg a 3000 mg, más preferentemente de 0,1 mg a 2000 mg, de un compuesto de la

invención, calculado como el compuesto precursor zwitteriónico.

Los compuestos farmacéuticamente aceptables de la invención se pueden administrar en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3000 mg al día o de 0,5 mg a 1000 mg al día del compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como zwitterión. Esta cantidad se puede dar en una única dosis al día o más usualmente en varias (tales como dos, tres, cuatro, cinco o seis) subdosis al día de modo que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de una sal de los mismos se puede determinar como una relación de la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) *per se*.

Los compuestos de la invención se pueden emplear solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. Las terapias asociadas de acuerdo con la presente invención comprenden, por tanto, la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el uso de al menos otro agente farmacéuticamente activo. Preferentemente, las terapias asociadas de acuerdo con la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos otro agente farmacéuticamente activo. El(los) compuesto(s) de la invención y el(los) otro(s) agente(s) farmacéuticamente activo(s) se pueden administrar juntos en una única composición farmacéutica o por separado y, cuando se administran por separado, esto se puede producir simultánea o secuencialmente en cualquier orden. Las cantidades del(de los) compuesto(s) de la invención y el(los) otro(s) agente(s) farmacéuticamente activo(s) y los momentos de administración relativos se seleccionarán con el fin de lograr el efecto terapéutico asociado deseado.

Por tanto, en otro aspecto, se proporciona una asociación que comprende un compuesto de la invención y al menos otro agente farmacéuticamente activo.

Por tanto, en un aspecto, el compuesto y las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden usar en asociación con otro u otros agentes terapéuticos más, o incluirlos, incluyendo terapias para enfermedad alérgica, enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmunitaria, terapias antifibróticas y terapias para enfermedad obstructiva de las vías respiratorias, terapias para enfermedades oculares diabéticas y terapias para nefelio, lesión corneal y cicatrización corneal.

Las terapias antialérgicas incluyen inmunoterapia con antígenos (tal como componentes y fragmentos de veneno de abeja, polen, leche, cacahuete, motivos de CpG, colágeno, otros componentes de la matriz extracelular que se pueden administrar como antígenos orales o sublinguales), antihistaminas (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).

Las terapias antiinflamatorias incluyen los AINE (tales como aspirina, ibuprofeno, naproxeno), moduladores de leucotrieno (tales como montelukast, zafirlukast, pranlukast), y otras terapias antiinflamatorias (tales como inhibidores de iNOS, inhibidores de triptasa, inhibidores de IKK2, inhibidores de p38 (losmapimod, dilmapiomod), inhibidores de elastasa, agonistas de beta2, antagonistas de DP1, antagonistas de DP2, inhibidores de p13K delta, inhibidores de ITK, inhibidores de LP (lisofosfatídicos) o inhibidores de FLAP (proteína activadora de 5-lipoxigenasa) (tales como 3-(3-(terc-butiltio)-1-(4-(6-etoxipiridin-3-il)encil)-5-((5-metilpiridin-2-il)metoxi)-1H-indol-2-il)-2,2-dimetilpropanoato de sodio); agonistas de adenosina a2a (tales como adenosina y regadenosón), antagonistas de quimiocinas (tales como antagonistas de CCR3 o antagonistas de CCR4), inhibidores de la liberación de mediadores.

Las terapias para enfermedad autoinmunitaria incluyen los FARME (tales como metotrexato, leflunomida, azatioprina), terapias biofarmacéuticas (tales como anti-IgE, anti-TNF, antiinterleucinas (tales como anti-IL-1, anti-IL-6, anti-IL-12, anti-IL-17, anti-IL-18)), terapias con receptores (tales como etanercept y agentes similares); inmunoterapias no específicas de antígenos (tales como interferón u otras citocinas/quimiocinas, moduladores de receptores de citocina/quimiocina, agonistas o antagonistas de citocina, agonistas de TLR y agentes similares).

Otras terapias antifibróticas incluyen inhibidores de la síntesis de TGF β (tales como pirfenidona), inhibidores de tirosina cinasa que seleccionan como objetivo el factor de crecimiento de células endoteliales vasculares (VEGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento fibroblástico (FGF) receptores de cinasas (tales como Nintedanib (BIBF-1120) y mesilato de imatinib (Gleevec)), antagonistas del receptor de endotelina (tales como ambrisentán o macitentan), antioxidantes (tales como N-acetilcisteína (NAC)); antibióticos de amplio espectro (tales como cotrimoxazol, tetraciclinas (clorhidrato de minociclina)), inhibidores de fosfodiesterasa 5 (PDE5) (tales como sildenafil), anticuerpos y fármacos anti- α v β x (tales como anticuerpos monoclonales anti- α v β 6 (tales como los descritos en la Patente Internacional WO2003100033A2); intetumumab; cilengitida) se pueden usar en asociación.

Las terapias para enfermedades obstructivas de las vías respiratorias incluyen broncodilatadores tales como agonistas de β 2 de acción breve, tales como salbutamol), agonistas de β 2 de acción prolongada (tales como salmeterol, formoterol y vilanterol), antagonistas muscarínicos de acción breve (tales como bromuro de ipratropio), antagonistas muscarínicos de acción prolongada, (tales como tiotropio, umeclidinio).

En algunas realizaciones, el tratamiento también puede implicar la asociación de un compuesto de esta invención con otros modos de tratamiento existentes, por ejemplo agentes existentes para el tratamiento de enfermedades oculares diabéticas, tales como tratamientos anti-VEGF, por ejemplo, Lucentis®, Avastin® y Aflibercept y esteroides, por

ejemplo, triamcinolona e implantes esteroideos que contienen acetónido de fluocinolona.

En algunas realizaciones, el tratamiento también puede implicar la asociación de un compuesto de esta invención con otros modos de tratamiento existentes, por ejemplo, agentes existentes para el tratamiento de nefelio, lesión corneal o cicatrización corneal, tales como Gentel®, extracto de sangre de ternera, Levofloxacin® y Ofloxacin®.

5 Los compuestos y las composiciones de la invención se pueden usar para tratar tumores malignos solos o en asociación con terapias para el cáncer que incluyen quimioterapia, radioterapia, agentes seleccionados como objetivo, inmunoterapia y terapia celular o génica.

10 Quedará claro para un experto en la materia, cuando sea apropiado, que se puede(n) usar el(los) otro(s) ingrediente(s) terapéutico(s) 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, tales como solubilidad, del ingrediente terapéutico. También quedará claro, cuando sea apropiado, que los ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma ópticamente pura.

15 Las asociaciones referidas anteriormente se pueden presentar convenientemente para su uso en forma de una composición farmacéutica y, por tanto, las composiciones farmacéuticas que comprenden una asociación como se definió anteriormente junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable representan otro aspecto de la invención. Los compuestos individuales de dichas combinaciones se pueden administrar secuencialmente o bien simultáneamente en composiciones farmacéuticas separadas o asociadas. Preferentemente, los compuestos individuales se administrarán simultáneamente en una composición farmacéutica asociada. Las dosis apropiadas de agentes terapéuticos conocidos serán fácilmente apreciadas por los expertos en la materia.

20 Se apreciará que, cuando el compuesto de la presente invención se administra en asociación con otro u otros agentes terapéuticamente activos más administrados normalmente por vía inhalatoria, intravenosa, oral, intranasal, ocular, tópica u otra vía, la composición farmacéutica resultante se puede administrar por la misma vía. De forma alternativa, los componentes individuales de la composición se pueden administrar por vías diferentes.

25 Las presentes invenciones se ilustrarán ahora solo a modo de ejemplo.

Abreviaturas

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

30 Ac (acetilo)

BCECF-AM (éster acetoximetílico de 2',7'-bis-(2-carboxietil)-5-(γ-6)-carboxifluoresceína)

BEH (*Ethylene Bridged Hybrid Technology*, tecnología de partículas híbridas con puentes de etileno)

Bu (butilo)

CBZ (carboxibencilo)

35 CHAPS (3-[(3-colamidopropil)dimetilamonio]-1-propanosulfonato)

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

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

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

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

40 CDI (carbonildiimidazol)

CSH (*Charged Surface Hybrid Technology*, tecnología de partículas híbridas de superficie cargada)

VC (volumen de columna)

DCM (diclorometano)

DIPEA (diisopropiletilamina)

45 DMF (*N, N*-dimetilformamida)

- DMSO (dimetilsulfóxido)
- DSC (calorimetría diferencial de barrido)
- Et (etilo)
- EtOH (etanol)
- 5 EtOAc (acetato de etilo)
- h (hora/horas)
- HCl (ácido clorhídrico)
- HEPES (ácido 4-(2-hidroxiethyl)-1-piperazinetanosulfónico)
- CLEM (cromatografía líquida-espectrometría de masas)
- 10 M (molar)
- MDAP (HPLC autopreparativa dirigida por masa)
- MDCK (riñón canino Madin-Darby)
- Me (metilo)
- MeCN (acetonitrilo)
- 15 MeI (yoduro de metilo)
- MeOH (metanol)
- min (minuto/minutos)
- EM (espectro de masas)
- PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ [1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II), complejo con diclorometano
- 20 Ph (fenilo)
- ⁱPr (isopropilo)
- (*R*)-BINAP (*R*)-(+)-2,2'-Bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno
- [Rh(COD)Cl]₂ (dímero cloro(1,5-ciclooctadieno)rodio(I))
- SPE (extracción en fase sólida)
- 25 TBME (éter metil-terc-butílico)
- TEA (trietilamina)
- TFA (ácido trifluoroacético)
- TGA (análisis termogravimétrico)
- TGA-IR (anализador termogravimétrico interconectado con infrarrojo)
- 30 THF (tetrahidrofurano)
- TLC (cromatografía en capa fina)
- UPLC (cromatografía líquida de alta resolución)
- XRPD (difracción en polvo de rayos X)
- Todas las referencias a salmuera se refieren a una solución acuosa saturada de cloruro de sodio.
- 35 **Detalles experimentales**
- CLEM analítica
- La CLEM analítica se realizó en uno de los siguientes sistemas A o B.

ES 2 704 525 T3

La detección UV en todos los sistemas fue una señal promedio de una longitud de onda de 220 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización en modo positivo y negativo con barrido alterno.

5 Los detalles experimentales de los sistemas A-C de CLEM como se hace referencia en la presente memoria son como sigue:

Sistema A

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

Caudal: 1 ml/min

Temp.: 40 °C

10 Disolventes: A: bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución de amoníaco
B: acetonitrilo

Gradiente:	<u>Tiempo (min)</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
	0	99	1
	1,5	3	97
15	1,9	3	97
	2,0	99	1

Sistema B

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

Caudal: 1 ml/min

20 Temp.: 40 °C

Disolventes: A: solución de ácido fórmico en agua al 0,1 % v/v
B: solución de ácido fórmico en acetonitrilo al 0,1 % v/v

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

Sistema C

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

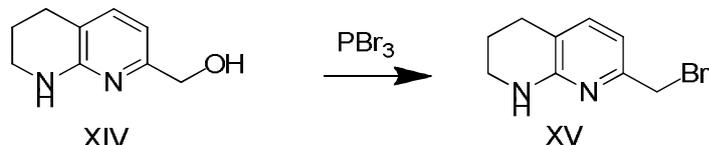
30 Caudal: 1 ml/min.

Temp.: 40 °C

Disolventes: A: bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución de amoníaco
B: acetonitrilo

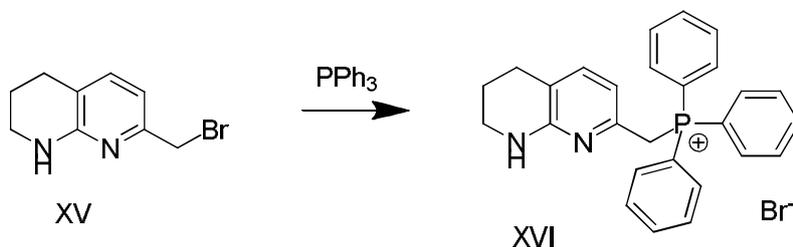
Gradiente:	<u>Tiempo (min)</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
35	0	97	3
	1,5	5	95
	1,9	5	95
	2,0	97	3

Compuesto intermedio 1: 7-(bromometil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina (compuesto (XV))



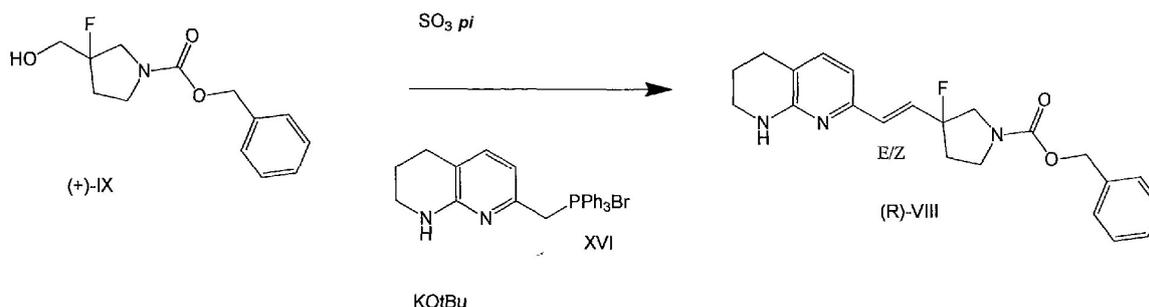
Se añadió gota a gota tribromuro de fósforo (0,565 ml, 5,99 mmol) a una suspensión de (5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)metanol (compuesto (XIV)): véase la Patente de EE. UU. 20040092538, página 80, [0844]) (820 mg, 4,99 mmol) en acetonitrilo anhidro (50 ml) a 0 °C en nitrógeno. Tras la adición, se formó un precipitado de color naranja oscuro, que se volvió naranja pálido. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h, tiempo en que se completó la reacción. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se dividió entre acetato de etilo (250 ml) y una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (250 ml). La fase acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (250 ml). Las soluciones orgánicas combinadas se hicieron pasar a través de una frita hidrófoba y, a continuación, se concentraron al vacío para dar *el compuesto del título* (1,05 g, 93 %) como un sólido cremoso esponjoso: CLEM (sistema C) TR=0,95 min, ES+vo *m/z* 227, 229 (M+H)⁺.

Compuesto intermedio 2: bromuro de trifenil((5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)metil)fosfonio (compuesto (XVI))



Se trató una solución de 7-(bromometil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina (compuesto (XV), para una preparación véase el compuesto intermedio 1) (1,00 g, 4,40 mmol) en acetonitrilo (98 ml) con trifetilfosfina (1,270 g, 4,84 mmol) y la solución se agitó a temperatura ambiente en nitrógeno durante la noche. La mezcla se concentró al vacío para dar un sólido crema oscuro, que se trituró a continuación con éter dietílico para dar *el compuesto del título* (2,139 g, 99 %) como un sólido crema pálido: CLEM (sistema C) TR= 1,23 min, ES+vo *m/z* 409 (M+H)⁺.

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



Se trató una solución agitada de (+) 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (compuesto (IX): disponible de Wuxi App Tec) (260 mg, 1,03 mmol) en DCM (3 ml) y DMSO (0,3 ml), en nitrógeno, con DIPEA (0,896 ml, 5,13 mmol). Después de enfriar a (0-5) °C (baño de hielo), se añadió piridina-trióxido de azufre (327 mg, 2,05 mmol) en porciones durante aprox. 5 min para oxidar el compuesto alcohólico (IX) al correspondiente compuesto aldehído (X) que no fue aislado. Se retiró el baño de enfriamiento y se continuó la agitación durante 0,5 h. Mientras tanto, se trató gota a gota una solución de bromuro de trifenil((5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il) metil)fosfonio (compuesto (XVI), para una preparación véase el compuesto intermedio 2) (553 mg, 1,13 mmol) en DCM anhidro (10 ml), en nitrógeno, con terc-butóxido de potasio (1 M en THF) (1,232 ml, 1,232 mmol) durante aprox. 5 min dando como resultado una solución de color naranja. Se continuó la agitación durante 10 min y, a continuación, se añadió la solución de aldehído (fórmula (X)) a la solución de iluro 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 de sodio acuoso saturado (20 ml) y salmuera (20 ml), se secó (Na₂SO₄), a continuación, se evaporó al vacío. El residuo marrón oscuro se purificó mediante cromatografía en un cartucho de SPE de 20 g de sílice y se eluyó con un gradiente de 0 % a 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 %); CLEM (sistema A) TR=1,28 min, 95 %, ES+vo *m/z* 382 (M+H)⁺

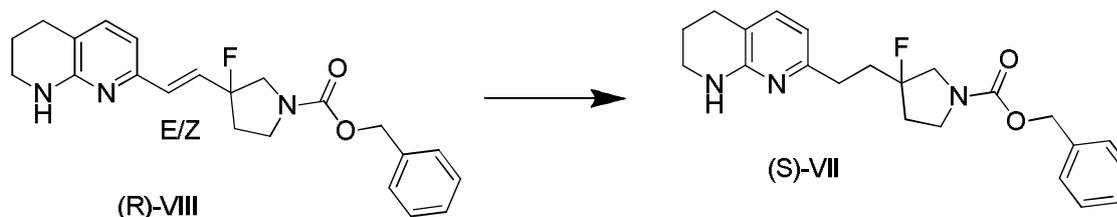
e

isómero 2: una goma de color pajizo (121,5 mg, 31 %); CLEM (sistema A) TR=1,22 min, 91 %, ES+vo m/z 382 (M+H)⁺

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

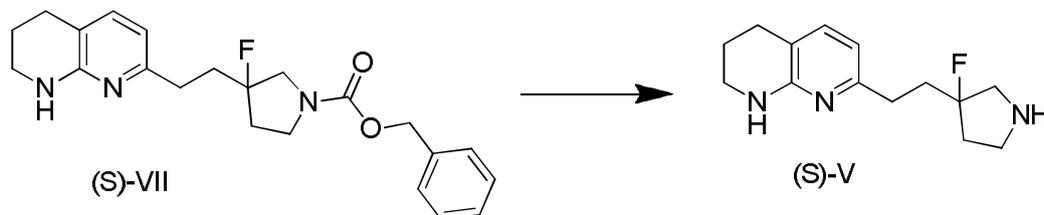
5 Posteriormente, la configuración del compuesto intermedio 3 mostró que era (R) y los dos isómeros geométricos eran: (R,E) 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo y (R,Z) 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo.

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



10 Se trató una solución de (E/Z) 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (compuesto VIII, para una preparación véase el compuesto intermedio 3) (1:1, E:Z) (244 mg, 0,640 mmol) en DMF (2 ml) con bencenosulfonilhidrazida (disponible de Alfa Aesar) (275 mg, 1,60 mmol) y carbonato de potasio (354 mg, 2,56 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 130 °C durante 1 h, a continuación, se dejó enfriar y se dividió entre DCM y agua. La fase orgánica se lavó con agua y se secó por medio de una frita hidrófoba. La solución orgánica se evaporó al vacío y el aceite naranja residual se purificó mediante cromatografía en un cartucho de sílice (20 g) eluyendo con un gradiente de 0 % a 50 % [(EtOAc: EtOH 3:1) - EtOAc] durante 20 min. Las fracciones apropiadas se combinaron y evaporaron al vacío para dar *el compuesto del título* (150 mg, 61 %) como una goma amarillo pálido: CLEM (sistema A) TR=1,24 min, 90 %, ES+vo m/z 384 (M+H)⁺. Posteriormente, se mostró que la configuración absoluta del compuesto intermedio 4 era (S), por ende el compuesto es (S) 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo. El cambio de (R) en el compuesto intermedio 3 a (S) en el compuesto intermedio 4 se debe al cambio en la prioridad de retirar el doble enlace.

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

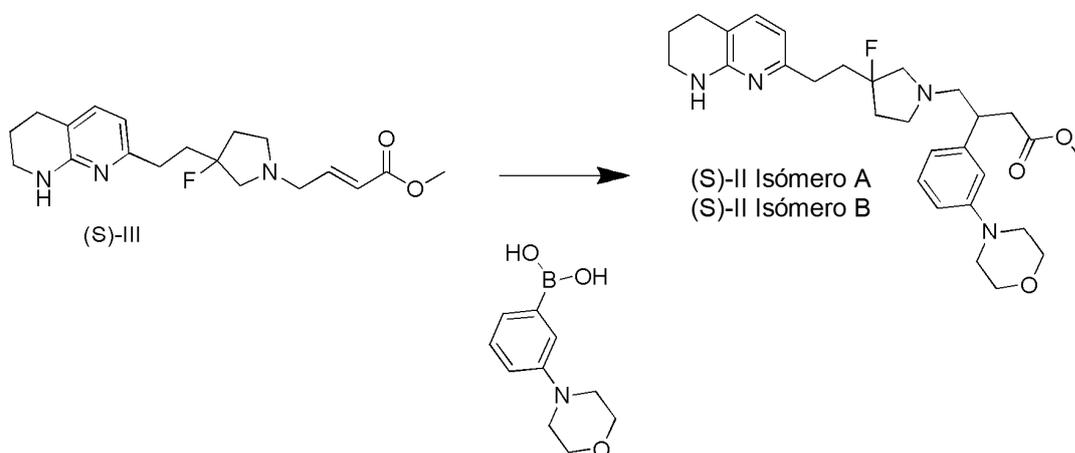


25 Se agitó una solución agitada de 3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (compuesto (VII, para una preparación véase el compuesto intermedio 4) (4,67 g, 12,2 mmol) en etanol (70 ml) que contenía un 10 % de paladio sobre carbón (0,50 g) en una atmósfera de hidrógeno durante 7 h. La CLEM mostró desprotección incompleta y se añadió un 10 % de paladio sobre carbón adicional (0,25 g) y la mezcla se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante la noche. La mezcla de reacción se presentó como una suspensión gris oscuro, por lo que se le añadió DCM para disolver el material hasta que la mezcla llegó a ser negra. Se retiró el catalizador mediante filtración a través de una almohadilla de celite y el líquido filtrado y los lavados se evaporaron al vacío. El residuo se evaporó de DCM para obtener *el compuesto del título* como un aceite naranja (3,28 g): CLEM (sistema A) TR = 0,79 min, 90 %, ES+vo m/z 250 (M+H)⁺. Posteriormente, se estableció por inferencia la configuración del compuesto intermedio 5 como (S) y el nombre del compuesto es (S)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina.

35 Compuesto intermedio 6. Sal de ácido metanosulfónico de [7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina, (compuesto (V))

ES+vo m/z 348 (M+H)⁺. Se estableció por inferencia la configuración del compuesto intermedio 8 como (S) y el nombre como (S,E) 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-3-enoato de metilo.

Compuesto intermedio 9: 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoato de metilo. Isómero A e isómero B)



5

Se disolvieron (E)-4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de metilo (compuesto (III)), para una preparación véase el compuesto intermedio 8) (145 mg, 0,334 mmol), (R)-BINAP (31 mg, 0,05 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (10 mg, 0,020 mmol), ácido (3-morfolinofenil)borónico (disponible de, por ejemplo, CombiBlocks, Manchester Organics o Fluorochem) (259 mg, 1,251 mmol) y KOH 3,8 M (0,22 ml, 0,836 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) en un vial de microondas y la solución se calentó en un horno de microondas (100 min, 95 °C). La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se lavó con EtOAc (10 ml) y se concentró. La mezcla de reacción se suspendió en MeOH (300 µl) y se purificó mediante cromatografía de fase inversa (C18, 40 g, MeCN al (5-95) % (que contenía amoníaco al 0,1 %) en bicarbonato de amonio 10 mM, 20 VC). Las fracciones apropiadas se combinaron y evaporaron para dar una mezcla diastereómera del *compuesto del título* (II) (99 mg, 58 %) como una goma.

10

15

La mezcla se disolvió en EtOH (2 ml) y heptano (1 ml) y los diastereoisómeros se separaron mediante HPLC quiral en una columna Chiralcel OD-H (3 cm × 25 cm) eluyendo con EtOH al 30 % (que contenía isopropilamina al 0,2 %) – heptano al 70 % (caudal = 30 ml/min, detectándose a 215 nm) para dar los dos diastereoisómeros del compuesto (II).

20

Isómero A (17 mg, 10 %): HPLC quiral analítica TR = 8,0 min, >99,5 % en una columna Chiralcel OD-H (4,6 mm de DI × 25 cm) eluyendo con (EtOH al 30 % (que contenía isopropilamina al 0,2 %) – heptano, caudal = 1,0 ml/min, detectándose a 215 nm; CLEM (sistema A) TR = 1,21 min, 99 %, ES+vo m/z 511 (M+H)⁺; RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 7,17 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,88-6,84 (m, 1H), 6,76 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,38 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 3,87-3,81 (m, 4H), 3,58 (s, 3H), 3,42-3,36 (m, 2H), 3,17-3,10 (m, 4H), 2,90-2,49 (m, 12H), 2,11-1,84 (m, 6H), 1,38-1,28 (m, 2H).

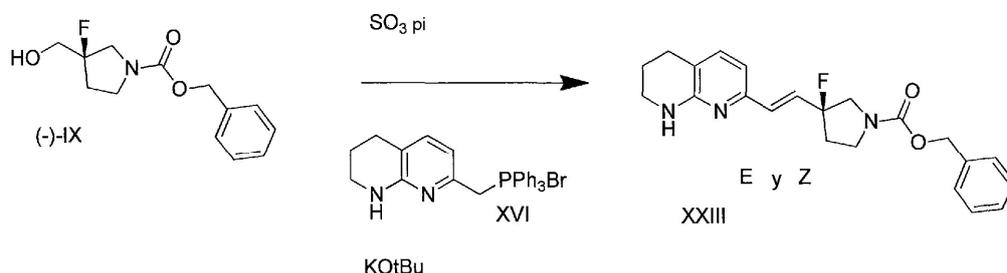
25

Isómero B (77 mg, 45 %): HPLC quiral analítica TR = 17,2 min, >99,5 % en una columna Chiralcel OD-H (4,6 mm de DI × 25 cm) eluyendo con (EtOH al 30 % (que contenía isopropilamina al 0,2 %) – heptano, caudal = 1,0 ml/min, detectándose a 215 nm; RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 7,18 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,13-7,07 (m, 1H), 6,89-6,77 (m, 2H), 6,74 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,36 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 3,87-3,75 (m, 4H), 3,57 (s, 3H), 3,40-3,34 (m, 2H), 3,28-3,20 (m, 1H), 3,16-3,07 (m, 4H), 2,91-2,74 (m, 4H), 2,74-2,44 (m, 9H), 2,07-1,91 (m, 3H), 1,91-1,80 (m, 2H).

30

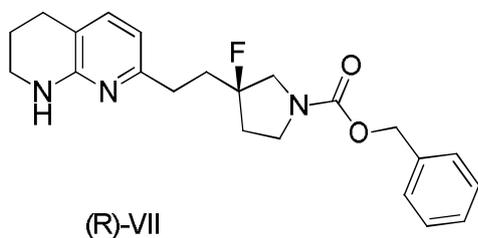
Posteriormente, la configuración absoluta de los dos isómeros del compuesto intermedio 9 se estableció por inferencia que era (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoato de metilo para el isómero principal (isómero B) y (R)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoato de metilo para el isómero secundario (isómero A).

Compuesto intermedio 10: (S, E, Z)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo. (Compuesto (XXIII))



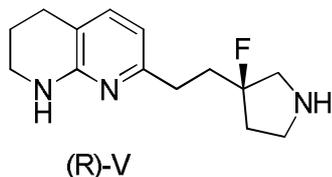
5 Se trató una solución agitada de (R)-(-)-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo [(*-*)-compuesto (IX)] (disponible de Wuxi App Tec) (4,18 g, 16,50 mmol) en diclorometano (60 ml) y DMSO (5,86 ml, 83 mmol) con DIPEA (14,41 ml, 83 mmol) en nitrógeno. Después de enfriar a entre 0 °C y 5 °C en un baño de hielo, se añadió piridina trióxido de azufre (5,40 g, 33,9 mmol) en porciones durante ca. 5 min. La solución se volvió de un color amarillo pálido y se continuó agitando durante ca. 0,5 h para dar una solución amarilla. La solución se lavó con HCl diluido (50 ml) y se secó (MgSO₄). A continuación, se añadieron bromuro de trifenil((5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)metil)fosfonio (compuesto XVI, para una preparación véase el compuesto intermedio 2) (8,06 g, 16,47 mmol) y una pequeña cantidad de DCM (ca. 5 ml) antes de la adición de ciclohexano (3,81 ml) para dar una solución naranja pálido. Se añadió gota a gota terc-butóxido de potasio (19,80 ml, 19,80 mmol) a esta solución, que dio lugar a una suspensión de color crema. Después de 1 h, se diluyó la mezcla de reacción con DCM (200 ml), se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) y salmuera (200 ml), se secó (MgSO₄), a continuación, se evaporó al vacío. El aceite naranja oscuro se solidificó durante la noche y se trituró con éter dietílico (ca. 30 ml), a continuación, se filtró para dar un sólido crema y un líquido filtrado amarillo. El líquido filtrado se evaporó al vacío para dar un aceite naranja y esto se aplicó a un cartucho de fase normal de 330 g de sílice y se eluyó con un gradiente de ciclohexano/acetato de etilo (acetato de etilo de 0 % al 100 % durante 50 min). Las fracciones apropiadas se evaporaron al vacío para dar el *compuesto del título* (3,953 g, 63 %) como una goma de color pajizo: CLEM (sistema C) TR = 1,28 min, 50 % y 1,34 min, 46 % ES+vo *m/z* 382 (M+H)⁺.

Compuesto intermedio 11: (R)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo



25 Se trató una solución agitada de (S, E y Z)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)vinil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (compuesto XXIII, para una preparación véase el compuesto intermedio 10) (3,814 g, 10,00 mmol) en DMF (40 ml) en nitrógeno con carbonato de potasio (5,53 g, 40,0 mmol), seguido de bencenosulfonohidrazida (4,38 g, 25,4 mmol) para dar un líquido amarillo. La mezcla se calentó a 100 °C durante 1 h, a continuación se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró a través de celite. El líquido filtrado se evaporó al vacío para dar una suspensión de color crema. Esta se dividió entre agua (100 ml) y acetato de etilo (100 ml) y la capa orgánica se lavó adicionalmente con agua (4 x 100 ml), se secó (MgSO₄), y, a continuación, se evaporó al vacío para obtener un aceite amarillo (3,261 g). Este se dejó en una línea de alto vacío durante el fin de semana (2,982 g). El aceite se disolvió en la mínima cantidad de DMSO (ca. 3 ml) y se aplicó a un cartucho de fase inversa de 120 g y se eluyó con un gradiente de 10 % a 100 % (acetonitrilo que contenía NH₃ al 0,1 %) en bicarbonato de amonio acuoso 10 mM sobre 12 VC. Las fracciones 6 a 9 se evaporaron parcialmente al vacío para retirar el acetonitrilo. La solución restante se diluyó con agua (40 ml) y DCM (60 ml), a continuación, se separó. Se extrajo adicionalmente la capa acuosa con DCM (3 x 30 ml) y se combinaron los extractos orgánicos, se secó (MgSO₄) y, a continuación, se evaporó al vacío para dar el *compuesto del título* (2,145 g, 56 %) como un aceite amarillo pálido. CLEM (sistema C): TR = 1,25 min, ES+vo *m/z* 384 (M+H)⁺.

Compuesto intermedio 12: (*R*)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina

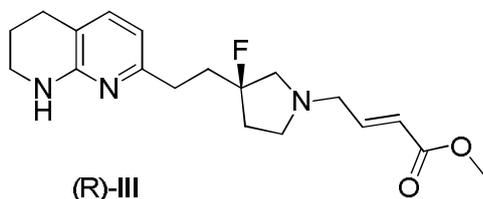


5

Se añadió una solución de (*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 11) (2,334 g, 6,09 mmol) en etanol (50 ml) a un 10 % de paladio sobre carbón (250 mg, 0,235 mmol) y la mezcla agitada en una atmósfera de hidrógeno durante 3 h, momento en que se añadió más paladio sobre carbón (107,2 mg). La reacción se agitó durante la noche. Se añadió DCM (ca. 30 ml) y la mezcla se filtró a través de celite en nitrógeno. El líquido filtrado se evaporó al vacío para dar *el compuesto del título* (1,575 g) como un aceite amarillo: CLEM (sistema C) TR = 0,83 min, ES+vo *m/z* 250 (M+H)⁺.

10

Compuesto intermedio 13: (*R,E*)-4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de metilo

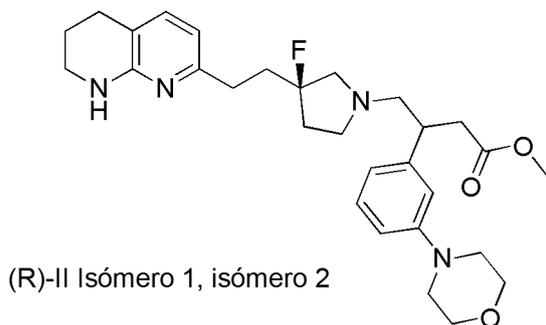


15

Se disolvieron (*E*)-4-acetoxibut-2-enoato de metilo (0,951 g, 6,01 mmol) (compuesto (IV), para una preparación véase el compuesto intermedio 7), (*R*)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina (para una preparación véase el compuesto intermedio 12) (1,520 g, 6,10 mmol), aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (0,242 g, 0,331 mmol) y acetato de potasio (2,083 g, 21,22 mmol) 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 dividió 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 MgSO₄. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en DCM y se purificó en un cartucho de aminopropilo (50 g) usando un gradiente de 0 % a 100 % de acetato de etilo-ciclohexano durante 20 min. Las fracciones apropiadas se combinaron y evaporaron al vacío para dar *el compuesto del título* (1,59 g, 75 %) como un aceite amarillo. CLEM (sistema C): TR = 1,07 min, ES+vo *m/z* 348 (M+H)⁺.

20

Compuesto intermedio 14. (*R*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoato de metilo y (*S*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoato de metilo



25

30

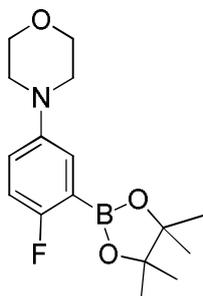
Se disolvieron (*R,E*)-4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 13) (429 mg, 0,988 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (29,7 mg, 0,060 mmol), ácido (3-morfolinofenil)borónico (716 mg, 3,46 mmol) y KOH 3,8 M (0,647 ml, 2,46 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la solución se calentó en un reactor de microondas (alta potencia, 100 min, 95 °C). La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se lavó con EtOAc (10 ml) y se concentró. La mezcla de reacción se suspendió en MeOH (300 μl) y se purificó mediante cromatografía de fase inversa (C18, 40 g) eluyendo con un gradiente de MeCN de 30 % a 85 % (que contenía amoníaco al 0,1 %) en bicarbonato de amonio acuoso 10 mM, 30 VC). Las fracciones apropiadas se combinaron y evaporaron para dar el producto como una mezcla de diastereoisómeros (214 mg, rendimiento del

42 %). La mezcla se separó mediante HPLC quiral preparativa en una columna Chiralcel OD-H (30 mm × 25 cm) eluyendo con EtOH al 30 % (que contenía isopropilamina al 0,2 %) en heptano, caudal = 30 ml/min, detectándose a 215 nm para dar los dos diastereoisómeros del compuesto del título:

5 isómero 1: ácido metil-(*R*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico (29 mg, 6 %). CLEM (sistema B) TR = 0,54 min, ES+vo m/z 511 (M+H)⁺; HPLC quiral analítica TR = 7,5 min, >99,5 % en una columna Chiralcel OD-H (4,6 mm × 25 cm) eluyendo con EtOH al 30 % que contenía isopropilamina al 0,2 %-heptano, caudal 1 ml/min.

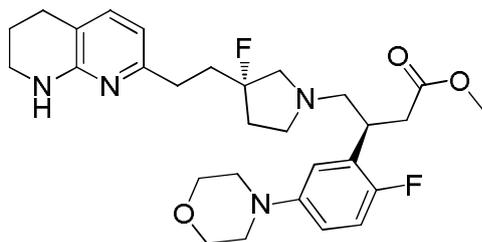
10 isómero 2: ácido metil-(*S*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico (138 mg, 27 %): CLEM (sistema B) TR = 0,57 min, ES+vo m/z 511 (M+H)⁺; HPLC quiral analítica TR = 13,9 min, >99,5 % en una columna Chiralcel OD-H (4,6 mm × 25 cm) eluyendo con EtOH al 30 % que contenía isopropilamina al 0,2 % - heptano, caudal 1 ml/min.

Compuesto intermedio 15. 4-(4-fluoro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)morfolina



15 Se disolvió 4-(4-fluorofenil)morfolina (Roiban, G-D. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 2070-2076) (85 g, 469 mmol) en ciclohexano (1,2 l) y el matraz se purgó durante 30 min con argón. A la solución resultante en argón se añadieron [Ir(COD)OMe]₂ (31,1 g, 46,9 mmol), 4,4'-di-*terc*-butil-2,2'-bipiridina (25,2 g, 94 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (60,0 g, 469 mmol) y se agitó a 70 °C durante 18 h. La reacción se supervisó mediante TLC. (EtOAc al 10 % en hexano. R_f = 0,2, que se detecta con UV). Se añadieron acetato de etilo (500 ml) y salmuera (200 ml) a la mezcla de reacción y se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El líquido residual (80 g) se cargó en una columna de gel de sílice (maya de 100 a 200) eluyendo con EtOAc-hexano al 3 %. Las fracciones apropiadas se combinaron y evaporaron al vacío. El residuo (60 g) se trituró con pentano (100 ml) para proporcionar 55 g de producto, que se trituró adicionalmente con pentano frío para dar *el compuesto del título* (50,3 g, 35 %) como un sólido blanco: CLEM ES+vo m/z 308 (M+H)⁺.

25 Compuesto intermedio 16. (*S*)-4-(*S*)-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoato de metilo



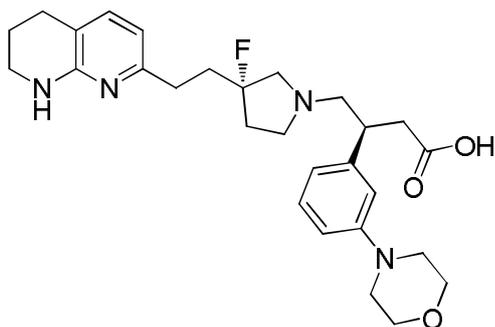
30 Se cargó un matraz con ácido (2-fluoro-5-morfolinofenil)borónico (para una preparación véase el compuesto intermedio 15) (216 mg, 0,958 mmol), (*S,E*)-4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 8) (111 mg, 0,319 mmol) y KOH (ac.) (0,252 ml, 0,958 mmol) en 1,4-dioxano (3 ml). La solución se desgasificó usando nitrógeno. Se disolvieron [Rh(COD)Cl]₂ (7,88 mg, 0,016 mmol) y (*R*)-BINAP (23,87 mg, 0,038 mmol) en 1,4-dioxano (3 ml) y se desgasificó la solución. Se mezclaron, desgasificaron y calentaron las dos soluciones en nitrógeno a 90 °C durante 1 h. La CLEM mostró una conversión mínima en el producto, aunque todavía quedaba bastante de ambos materiales de partida. Se añadieron [Rh(COD)Cl]₂ (7,88 mg, 0,016 mmol) y (*R*)-BINAP (23,87 mg, 0,038 mmol) a la solución y la solución se calentó a 50 °C durante 2 h). La CLEM mostró una conversión adicional en el producto, aunque la conversión todavía era solo de alrededor de un 20 %. Se añadieron cantidades adicionales de (*R*)-BINAP (23,87 mg, 0,038 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (7,88 mg, 0,016 mmol), ácido (2-fluoro-5-morfolinofenil)borónico (216 mg, 0,958 mmol) y KOH (ac.) (0,252 ml, 0,958 mmol). La solución se calentó a 50 °C durante 2 h). La CLEM mostró una conversión adicional en el producto requerido y por ello se detuvo la reacción. La mezcla de reacción se hizo pasar a través de celite (10 g) y se lavó con 3 VC de MeOH. El líquido filtrado se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por medio de cromatografía de

fase inversa en un cartucho Biotage SNAP (30 g) eluyendo con acetonitrilo al (40-85) %-solución ac. de bicarbonato de amonio 10 mM. Las fracciones apropiadas se recogieron y se evaporaron al vacío para proporcionar *el compuesto del título* (116,9 mg, 69 %). CLEM (sistema A) TR = 1,23 min, 94 %, ES+vo m/z 529 (M+H)⁺; HPLC quiral anal. TR = 9,5 min, >95 % eluyendo con EtOH al 20 % (que contenía isopropilamina al 0,2 %-heptano en una columna de cromatografía Chiralcel OD-H (250 mm × 4,6 mm), caudal 1 ml/min, detectándose a 215 nm.

5

Preparación de los 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-morfolinofenil)butanoico



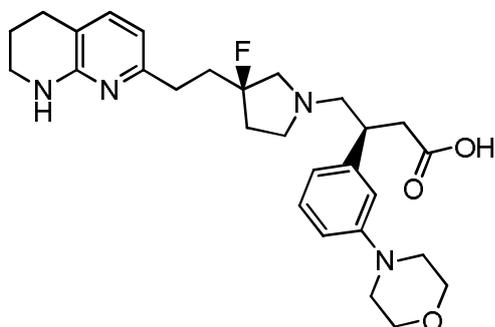
10 Se disolvió (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 9, isómero B) (77 mg, 0,15 mmol) en MeOH (1 ml). Se añadió LiOH_(ac.) (1 M, 0,452 ml) a la mezcla de reacción. Se agitó la mezcla de reacción durante 18 h a temperatura ambiente. Se añadió HCl_(ac.) (2 M, 0,226 ml) a la mezcla de reacción, a continuación, se cargó en una columna SCX

15 preacondicionada eluyendo con MeOH (2 VC) y, a continuación, con NH₃ 2 M en MeOH (2 VC). Las fracciones amoniacaes se combinaron y se evaporaron. El residuo se purificó usando cromatografía de fase inversa (C18, MeCN al (5-95) % (que contenía amoniaco al 0,1 % en bicarbonato de amonio 10 mM, 15 VC). Las fracciones apropiadas se recogieron y se evaporaron para dar *el compuesto del título* como una goma (61 mg, rendimiento del 81 %): HPLC quiral analítica TR = 7,06 min, >99,5 % en una columna Chiralpak AS-H (4,6 mm de DI × 25 cm) eluyendo con EtOH al 50 % - heptano, caudal = 1,0 ml/min, detectándose a 215 nm; CLEM (sistema A) TR = 0,76 min, 98 %, ES+vo m/z

20 497 (M+H)⁺; RMN de ¹H (CD₃OD, 600 MHz) 7,27-7,20 (m, 2H), 6,89 (s, 1H), 6,86 (dd, *J* = 8,3; 2,0 Hz, 1H), 6,78 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,45 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 3,88-3,80 (m, 4H), 3,49-3,28 (m, 6H), 3,25-3,18 (m, 2H), 3,17-3,13 (m, 4H), 3,03 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 2,82 (dd, *J* = 16,1; 8,8 Hz, 1H), 2,77-2,68 (m, 4H), 2,67-2,56 (m, 1H), 2,25 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H), 2,20-2,09 (m, 3H), 1,90 (quin., *J* = 6,0 Hz, 2H).

25 Se determinó la configuración absoluta de los centros asimétricos del ejemplo 1 y se encontró que el compuesto tenía la 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-morfolinofenil)butanoico.

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



30 Se trató una solución de (S)-4-(R)-3-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 14 isómero 2) (138 mg, 0,270 mmol) en metanol (1 ml) con solución acuosa de LiOH (1 M, 0,811 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. A continuación, se añadió HCl 2 M (0,405 ml, 0,811 mmol) a la mezcla de reacción, y se aplicó a un cartucho SCX preacondicionado. A continuación se lavó el cartucho con MeOH (2 VC), seguido de amoniaco 2 M en metanol (2 VC). Las fracciones amoniacaes se combinaron, se evaporaron y se purificó el residuo usando cromatografía de fase inversa (cartucho C18) eluyendo con MeCN al (5-95) % (que contenía amoniaco al 0,1 % en solución acuosa de bicarbonato de amonio 10 mM (15 VC). Las fracciones apropiadas se evaporaron para

35

dar el compuesto del título (121 mg, 90 %) como una goma. La goma se disolvió en éter dietílico (2 ml) y, a continuación, se añadió gota a gota ciclohexano (~5 ml). Apareció un sólido y la suspensión se evaporó a presión reducida para dar el compuesto del título: CLEM (sistema A) TR = 0,77 min, ES+vo m/z 497 (M+H)⁺; RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 600 MHz) 7,12 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,02 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,82-6,81 (m, 1H), 6,76-6,73 (m, 1H), 6,69-6,67 (m, 1H), 6,28 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,26-6,24 (m, 1H), 3,74-3,69 (m, 4H), 3,25-3,21 (m, 2H), 3,15-3,09 (m, 1H), 3,09-3,05 (m, 4H), 2,87-2,65 (m, 4H), 2,64-2,56 (m, 3H), 2,56-2,45 (m, 4H+ (enmascarado por el disolvente)), 2,40 (dd, *J* = 16 Hz; 8,5 Hz, 1H), 2,04-1,81 (m, 4H), 1,74 (quin., *J* = 6,0 Hz, 2H).

Se determinó la configuración absoluta de los centros asimétricos del ejemplo 2 y se encontró que el compuesto tenía la fórmula estructural (IA3) ácido (S)-4-(R)-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico.

Ejemplo 3: sal de 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-morfolinofenil)butanoico

Se añadió MeCN (0,2 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-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (19,8 mg) seguido de adición de ácido maleico (solución 3 M en agua, 0,0133 ml). La temperatura de la solución se varió cíclicamente entre 40 °C y 5 °C durante 48 h con un espacio de una hora entre cada ciclo. Los sólidos cristalinos se aislaron usando un tubo de filtro de centrifuga equipado con filtro de 0,45 μm proporcionando sal de maleato cristalina.

Se añadió MeCN (3,5 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-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (349,6 mg, 0,70 mmol). A la solución oleosa se añadió ácido maleico (solución 3 M en agua, 1,0 equivalente), lo que condujo a una solución naranja. Se añadieron siembras de cristales (para una preparación véase anteriormente). La solución se agitó a 40 °C durante 1 h, se enfrió a 5 °C durante 1 h y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La sal de maleato cristalina se aisló mediante filtración a vacío y se secó al aire durante 15 min. El rendimiento de la sal de maleato cristalina fue (269,6 mg, 62 %): p. f. 184,5 °C (inicio de fusión, DSC).

Preparación alternativa: al ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (1,146 g, 2,308 mmol) se añadió acetonitrilo (11,5 ml). A esta solución oleosa agitada se añadió ácido maleico 3,0 M en agua (0,769 ml, 2,308 mmol) para dar una solución naranja pálido. Se calentó la solución a 40 °C y se añadieron siembras de maleato cristalino (para una preparación, véase anteriormente). La mezcla se calentó a 40 °C durante 1 h y el sólido blanco que apareció se volvió rosa pálido durante la hora. La mezcla se enfrió en un baño de hielo/agua durante 1 h. Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante 18 h y, a continuación, se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con acetonitrilo (2 ml), y se secó al vacío para dar el compuesto del título (751 mg, 53 %) como un sólido rosa pálido. RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 600 MHz) 7,27 (1H, d, CH), 7,17 (1H, t, CH), 6,92 (1H, s. a., NH), 6,89 (1H, t, CH), 6,80 (1H, dd, CH), 6,75 (1H, d. a., CH), 6,44 (1H, d, CH), 6,04 (2H, s, CH [maleato]), 3,73 (4H, t. a., 2xCH₂), 3,31 (2H, t, CH₂), 3,29-3,20 (2H, CH+½ CH₂), 3,17-3,07 (7H, t. a. + m, 2xCH₂ +3X1/2 CH₂), 3,04 (1H, m. a., ½ CH₂), 2,98 (1H, m. a., ½ CH₂), 2,75 (1H, dd, ½ CH₂), 2,68-2,59 (4H, m, 2xCH₂), 2,49 (1H, dd, ½ CH₂), 2,17-1,98 (4H, m, 2xCH₂), 1,78 (2H, m, CH₂).

Ejemplo 4: sal de fumarato 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-morfolinofenil)butanoico

Se añadió MeCN (0,2 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-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (19,7 mg) seguido de adición de ácido fumárico (solución 0,2 M en EtOH, 198,3 μl). La temperatura de la solución se varió cíclicamente entre 40 °C y 5 °C durante 48 h con un espacio de una hora entre cada ciclo. El disolvente se evaporó a presión reducida y se añadió MeCN (0,2 ml). La temperatura del producto se varió cíclicamente entre 40 °C y 5 °C durante la noche (~16 h) con un espacio de una hora entre cada ciclo, lo que condujo a una goma. Se añadieron siembras de sal de fumarato (para una preparación véase el ejemplo 3) a la goma y se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante la noche, lo que condujo a una mezcla de goma y sólidos cristalinos.

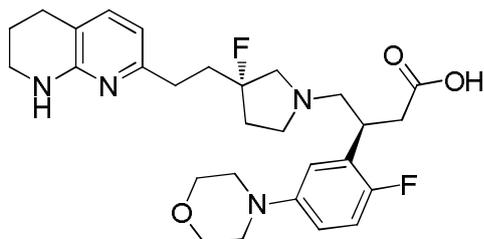
Se añadió EtOH (0,5 ml) a ácido (S)-4-(S)-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (344,2 mg, 0,69 mmol). A la solución oleosa se añadió ácido fumárico (solución 0,2 M en EtOH, 1,0 equivalente) junto con siembras de sal de fumarato (para una preparación véase anteriormente), lo que condujo a un precipitado blanquecino. Se agitó la suspensión a 40 °C durante 1 h, se enfrió a 5 °C durante 1 h y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La sal de fumarato cristalina se aisló mediante filtración a vacío y se secó al aire durante 15 min. El rendimiento de sal de fumarato cristalina fue (345,9 mg, 81 %): p. f. 171. °C (inicio de fusión, DSC).

Preparación alternativa:

Al ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (1,24 g, 2,50 mmol) se añadió EtOH (1,8 ml). A esta solución oleosa agitada se añadió ácido fumárico 0,2 M en EtOH (12,48 ml, 2,5 mmol) y siembras de sal de fumarato cristalina (para una preparación véase anteriormente) para dar una solución naranja pálido y una goma. Esto se calentó a 40 °C durante

1 h. Durante la hora precipitó un sólido blanco. La suspensión se enfrió en un baño de hielo/agua y se agitó durante 1 h. A continuación, se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante 18 h. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con etanol (2 ml). El sólido se secó al vacío para dar *el compuesto del título* (1,34 g, 88 %) como un sólido blanco: RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 600 MHz) 7,13 (1H, t, CH), 7,08 (1H, d, CH), 6,82 (1H, t, CH), 6,78 (1H, s. a., NH), 6,75 ppm (1H, dd, CH), 6,69 (1H, d. a., CH), 6,61 (2H, s, CH [fumarato]), 6,31 (1H, d, CH), 3,72 (4H, t. a., 2xCH₂), 3,25 (2H, t. a., CH₂), 3,13 (1H, m, CH), 3,08 (4H, t. a., 2xCH₂), 2,85-2,69 (5H, m, CH₂+3x 1/2 CH₂), 2,61 (2H, t, CH₂), 2,58-2,48 (4H, m, CH₂+2x1/2CH₂), 2,41 (1H, dd, CH), 2,03-1,85 (4H, m, 2xCH₂), 1,75 (2H, m, CH₂).

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



Se trató una solución de (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 16) (116,9 mg, 0,221 mmol) en THF con LiOH ac. (1 M, 1,1 ml, 1,1 mmol). La solución se agitó a 25 °C durante 5 h. La CLEM mostró una conversión completa en el producto. A la solución se añadió HCl 2 M (0,663 ml, 1,327 mmol) y, a continuación, se cargó la solución en una columna SCX preacondicionada (10 g) eluyendo con 3 VC de NH₃ 2 M en MeOH (3 VC). La fracción apropiada se recogió y se evaporó a presión reducida para dar *el compuesto del título* (114,3 mg, 100 %) como un sólido rosa: CLEM (sistema A) TR = 0,77 min, 98 %, ES+vo *m/z* 515 (M+H)⁺; RMN (D₂O, 400 MHz) 7,37 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,06 (t, J = 9 Hz, 1H), 6,99-6,92 (m, 2H), 6,49 (d, J = 7 Hz, 1H), 3,88-3,80 (m, 4H), 3,67-3,39 (m), 3,36-3,20 (m), 3,10-3,03 (m, 4H), 2,76-2,62 (m, 5H), 2,51 (dd, J = 15,7 Hz, 1H), 2,38-2,07 (m, 4H), 1,85-1,77 (m, 2H).

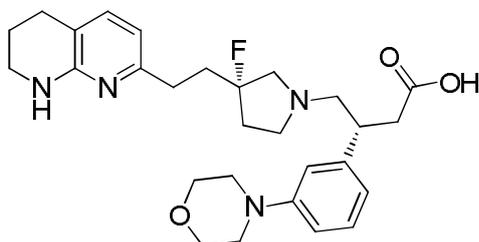
Ejemplo 6. Hidrato de sal de citrato de ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico

Se añadió MeCN (0,2 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-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (20,4 mg) seguido de adición de ácido cítrico (solución 1 M en THF, 41,1 µl), lo que condujo a una goma. La temperatura del residuo de goma se varió cíclicamente entre 40 °C y 5 °C durante 48 h con un espacio de una hora entre cada ciclo. El disolvente se evaporó a presión reducida y se añadió MeCN (0,2 ml). La temperatura del producto obtenido se varió cíclicamente entre 40 °C y 5 °C durante la noche (~16 h) con un espacio de una hora entre cada ciclo, lo que condujo a una sal de citrato cristalina.

Se añadió MeCN (6,0 ml) a una muestra 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-morfolinofenil)butanoico (para una preparación véase el ejemplo 1) (349,5 mg). A la solución oleosa se añadió ácido cítrico (solución 1 M en THF, 0,704 ml) en cinco alícuotas, lo que condujo a un material gomoso. Se añadieron siembras de sal de citrato cristalina (para una preparación véase anteriormente). La suspensión gomosa se agitó a 40 °C durante una hora, se enfrió a 5 °C durante una hora y se agitó a temperatura ambiente durante la noche, seguido de variación cíclica de la temperatura de la suspensión entre 40 °C y 5 °C durante dos días. La sal de citrato cristalina se aisló mediante filtración a vacío y se secó al aire durante 15 min. El rendimiento de sal de citrato cristalina fue (315,9 mg, 65 %): p. f. 121,4 °C (inicio de fusión por DSC). Los datos de TGA mostraron aproximadamente una pérdida de un 2,7 % en peso entre 25 °C y 135 °C. El análisis TGA-IR de los gases desprendidos reveló la presencia de agua, que indicó que la sal de citrato era un hidrato (un % en peso teórico para 1 equivalente de agua es un 2,6 %).

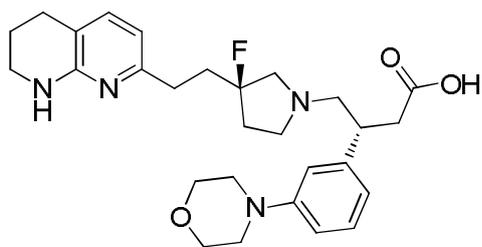
Las sales de mesilato y disuccinato cristalinas se prepararon de manera similar a partir de acetona-tolueno y acetonitrilo, respectivamente, y también se encontró que estaban hidratadas.

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



En un vial de microondas (0,5 ml - 2 ml) se añadieron (*E*)-4-bromobut-2-enoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 7) (113 mg, 0,634 mmol), (*S*)-7-(2-(3-fluoropirrolidin-3-il)etil)-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naftiridina (para una preparación véase el compuesto intermedio 5) (166,4 mg, 0,667 mmol), DIPEA (0,233 ml, 1,33 mmol) y diclorometano (1 ml) a 0 °C. La solución se agitó a 0 °C durante 3 h. La CLEM mostró una conversión moderada en el compuesto intermedio alquilado. A continuación se evaporó la solución en nitrógeno. Al vial de microondas se añadió KOH (ac.) 3,8 M (0,351 ml, 1,335 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (15 mg, 0,030 mmol), ácido (3-morfolinofenil)borónico (276 mg, 1,335 mmol) y R-BINAP (50 mg, 0,080 mmol) y el vial se colocó en el microondas (5 h, 50 °C, alta potencia). La CLEM mostró cierta conversión y tanto el material de partida como el ácido borónico todavía estaban presentes. El vial se colocó nuevamente en el microondas (1 h, 70 °C). La CLEM mostró una conversión adicional en el éster y protodesborilación completa del ácido borónico. Se añadieron R-BINAP (50 mg, 0,080 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (15 mg, 0,030 mmol), ácido (3-morfolinofenil)borónico (276 mg, 1,335 mmol) y KOH (ac.) 3,8 M (0,351 ml, 1,33 mmol) al vial y el vial se colocó en el microondas (1 h, 85 °C). La CLEM mostró cierta conversión, pero para mejorar el rendimiento, se añadieron adicionalmente R-BINAP (50 mg, 0,080 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (15 mg, 0,030 mmol), ácido (3-morfolinofenil)borónico (276 mg, 1,335 mmol) y KOH (ac.) 3,8 M (0,351 ml, 1,33 mmol) y el vial se colocó nuevamente en el microondas (1 h, 100 °C). La CLEM mostró una conversión suficiente y la mezcla se hizo pasar a través de celite (10 g, 20 ml de MeOH) y el líquido filtrado se evaporó al vacío. Se cargó la mezcla en MeOH:DMSO (1:1) y se purificó en una columna (C18) de fase inversa (30 g) usando MeCN al (50-95) % (que contenía amoníaco al 0,1 %) en gradiente de bicarbonato de amonio 10 mM sobre 10 VC. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el compuesto intermedio requerido. A un matraz de fondo redondo se añadió KOH 3,8 M (3,34 ml, 12,69 mmol) y la solución se suspendió en tetrahidrofurano (2 ml) (agitada durante la noche, 25 °C). La CLEM mostró una conversión mínima en el carboxilato. Se añadió LiOH (ac.) 1 M (3,34 ml, 3,34 mmol) y la reacción se agitó a 25 °C. Se añadió HCl (ac.) 2 M (8,34 ml, 16,68 mmol) a la mezcla de reacción y, a continuación, se cargó en una columna SCX prehumedecida (10 g, prehumedecida con 1 VC de MeOH, a continuación, 1 VC de MeCN) y, a continuación, se lavó con 2 VC de MeCN seguido de 2 VC de NH₃ en MeOH. La fracción apropiada se evaporó a presión reducida. La muestra se disolvió en MeOH:DMSO:H₂O 10:10:1 (2,4 ml) y se purificó mediante MDAP (realizado en columna XBridge C₁₈ (típicamente con DI 100 mm x 30 mm, diámetro de empaquetamiento 5 µm) a temperatura ambiente, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo - bicarbonato amónico acuoso 10 mM ajustado a pH 10 con solución amoniacal). El disolvente se evaporó en una corriente de nitrógeno para dar el producto requerido como una mezcla de diastereoisómeros. La mezcla se separó mediante HPLC quiral preparativa en una columna Daicel Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) eluyendo con EtOH al 50 % en heptano a un caudal de 15 ml/min, detectándose a 215 nm. El disolvente se evaporó de las fracciones que contenían el isómero secundario que eluye en último lugar para dar *el compuesto del título* (7 mg, 2 %). HPLC quiral analítica TR = 8,15 min en una columna Daicel Chiralpak AS (4,6 mm x 25 cm) eluyendo con EtOH al 50 % en heptano, caudal = 1,0 ml/min, detectándose a 215 nm; CLEM (sistema C) TR = 0,76 min, 98,9 %, ES+vo *m/z* 497 (M+H)⁺.

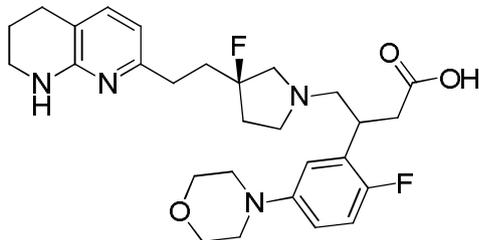
Ejemplo 8. Ácido (*R*)-4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico



Se disolvió (*R,E*)-4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 13) (110 mg, 0,253 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) en nitrógeno. A continuación, se añadió ácido (3-morfolinofenil)borónico (157 mg, 0,760 mmol) a la mezcla de reacción. Se disolvió [Rh(COD)Cl]₂ (13,4 mg, 0,027 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml) y se burbujeó nitrógeno durante 2 min. Esta solución de color rojo oscuro se añadió al matraz de reacción principal. Se añadió KOH (ac.) 3,8 M (0,2 ml, 0,76 mmol), a continuación, se calentó la mezcla de reacción a 50 °C durante 1 h. La CLEM mostró cierta conversión en el producto. La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 1 h. La CLEM no mostró conversión adicional en el producto. La mezcla de reacción se enfrió y se filtró a través de celite. La columna se lavó con EtOH (10 ml). La solución se evaporó a presión reducida, a continuación, se suspendió en LiOH (ac.) 1 M (1 ml, 1 mmol) y 1,4-dioxano (1 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche. La CLEM mostró conversión en el producto. La mezcla de reacción se acidificó con HCl (ac.) 2 M (0,5 ml). La mezcla en bruto se cargó en un cartucho SCX y se eluyó con NH₃ 2 M en MeOH. Las fracciones amoniacales se evaporaron y la mezcla en bruto se suspendió en MeOH (1 ml). El material se purificó mediante cromatografía de fase inversa en una columna C18 (30 g) eluyendo con un gradiente de MeCN al (5-70) % (que contenía amoníaco al 0,1 %) en bicarbonato de amonio 10 mM, 10 VC). Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron. El residuo se purificó mediante HPLC quiral en una columna Daicel Chiralpak AS (20 mm x 25 cm) eluyendo con EtOH al 50 % en heptano a un caudal de 15 ml/min y detectándose a 215 nm. El disolvente se evaporó a partir de las fracciones que contenían el isómero que eluye en último lugar para dar *el compuesto del título* (6 mg, 5 %). HPLC quiral analítica TR = 26,5 min en una columna Daicel Chiralpak AS-H (4,6 mm x 25 cm) eluyendo con

EtOH al 50 % en heptano, caudal = 1,0 ml/min, detectándose a 215 nm; CLEM (sistema A) TR = 0,81 min, 100 %, ES+vo m/z 497 (M+H)⁺.

Ejemplo 9. Ácido 4-((*R*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico



5

Se disolvieron (*R, E*)-4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)but-2-enoato de metilo (para una preparación véase el compuesto intermedio 13) (145 mg, 0,417 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (10,29 mg, 0,021 mmol), R-BINAP (31,2 mg, 0,050 mmol), 4-(4-fluoro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)morfolina (para una preparación véase el compuesto intermedio 15) (256 mg, 0,835 mmol) y KOH (ac.) 3,8 M (0,220 ml, 0,835 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y la solución se calentó en el microondas (alta potencia, 1 h, 100 °C). La solución se dejó durante el fin de semana y la CLEM no mostró conversión en el producto. La reacción se repitió con R-BINAP (31,2 mg, 0,050 mmol), [Rh(COD)Cl]₂ (10,29 mg, 0,021 mmol) y KOH (ac.) 3,8 M (0,220 ml, 0,835 mmol) añadidos. La CLEM mostró que la reacción había progresado suficientemente y la mezcla se hizo pasar a través de celite (MeOH, 3 VC) y se evaporó a presión reducida. El producto se purificó mediante cromatografía de fase inversa (cargado en MeOH/DMSO 1 : 1) en una columna C18 (40 g), eluyendo con MeCN al (35-95) % (que contenía amoníaco al 0,1 %) en bicarbonato de amonio 10 mM (10 VC). Las fracciones apropiadas se evaporaron a presión reducida y, a continuación, el producto se disolvió en tetrahidrofurano (2 ml) y se hizo reaccionar con LiOH (ac.) 1 M (2,087 ml, 2,087 mmol) (temperatura ambiente, 2 h). La CLEM mostró que la reacción había progresado hasta su finalización. Se añadió HCl (ac.) 2 M (1,5 ml, 3 mmol) y la mezcla se cargó en una columna SCX prehumedecida (10 g, preconditionada con 1 VC de MeOH, a continuación, 1 VC de MeCN, la muestra se cargó, se lavó con 2 VC de MeCN, a continuación, 2 VC de NH₃ 2 M en MeOH). La fracción apropiada se evaporó a presión reducida. El producto se cargó en una columna C18 de fase inversa (12 g) eluyendo con MeCN al (15-55) % (que contenía amoníaco al 0,1 %) en bicarbonato de amonio 10 mM (10 VC). Las fracciones apropiadas se evaporaron a presión reducida para dar el compuesto del título (12 mg, 6 %). CLEM (sistema A) TR = 0,77 min, 98 %, ES+vo m/z 515 (M+H)⁺.

10

15

20

25

Ensayos biológicos

Ensayos de adhesión celular

Los reactivos y procedimientos usados fueron como se describe [Ludbrook *et al*, *Biochem. J.* **2003**, 369, 311 y Macdonald *et al*. *ACS MedChemLett* **2014**, 5, 1207-1212 para un ensayo de $\alpha_v\beta_8$), con los siguientes puntos de aclaración. Se usaron las siguientes estirpes celulares, con ligandos entre corchetes: K562- $\alpha_v\beta_3$ (LAP-b₁), K562- $\alpha_v\beta_5$ (vitronectina), K562- $\alpha_v\beta_6$ (LAP-b₁), K562- $\alpha_v\beta_8$ (LAP-b₁), A549- $\alpha_v\beta_1$ (LAP-b₁). El catión divalente usado para facilitar la adhesión fue MgCl₂ 2 mM. La adhesión se cuantificó mediante etiquetado celular con tinte fluorescente BCECF-AM (Life Technologies), donde las suspensiones celulares a 3×10^6 células/ml se incubaron con 0,33 ul/ml de BCECF-AM 30 mM a 37 °C durante 10 minutos, a continuación, se repartieron 50 μ l/pozo en una placa de ensayo de 96 pozos. En la conclusión del ensayo, se lisaron las células que se adhirieron usando 50 μ l/pozo de tritón X-100 al 0,5 % en H₂O para emisión de fluorescencia. Se detectó la intensidad de la fluorescencia usando un lector de placas Envision® (Perkin Elmer). Para los antagonistas activos en el ensayo, los datos se ajustaron a una ecuación logística de 4 parámetros para las determinaciones de la CI₅₀.

30

35

La potencia (pCI₅₀) para el ejemplo 1 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6$ pCI₅₀=8,0; $\alpha_v\beta_3$ pCI₅₀=6,9; $\alpha_v\beta_5$ pCI₅₀=7,1; $\alpha_v\beta_8$ pCI₅₀=7,6; $\alpha_v\beta_1$ pCI₅₀=7,0.

40

La potencia (pCI₅₀) para el ejemplo 2 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6$ pCI₅₀=7,9; $\alpha_v\beta_3$ pCI₅₀=6,2; $\alpha_v\beta_5$ pCI₅₀=6,8; $\alpha_v\beta_8$ pCI₅₀=7,6.

La potencia (pCI₅₀) para el ejemplo 3 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6$ pCI₅₀=8,2; $\alpha_v\beta_3$ pCI₅₀=6,9; $\alpha_v\beta_5$ pCI₅₀=7,6; $\alpha_v\beta_1$ pCI₅₀=7,1.

45

La potencia (pCI₅₀) para el ejemplo 4 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6$ pCI₅₀=8,1; $\alpha_v\beta_3$ pCI₅₀=6,8; $\alpha_v\beta_5$ pCI₅₀=7,6; $\alpha_v\beta_1$ pCI₅₀=7,0.

La potencia (pCI₅₀) para el ejemplo 5 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6$ pCI₅₀=7,8; $\alpha_v\beta_3$ pCI₅₀=6,1; $\alpha_v\beta_5$ pCI₅₀=6,5; $\alpha_v\beta_8$ pCI₅₀=7,6; $\alpha_v\beta_1$ pCI₅₀=6,8.

La afinidad (pCI₅₀) para el ejemplo 7 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6$ pCI₅₀=6,3; $\alpha_v\beta_3$ pCI₅₀=5,5; $\alpha_v\beta_5$

$pCl_{50}=6,0$; $\alpha_v\beta_8 pCl_{50}=5,9$.

La afinidad (pCl_{50}) para el ejemplo 8 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6 pCl_{50}=6,5$; $\alpha_v\beta_3 pCl_{50} < 5,0$.

La afinidad (pCl_{50}) para el ejemplo 9 en los ensayos de adhesión celular fue para: $\alpha_v\beta_6 pCl_{50}=7,6$; $\alpha_v\beta_3 pCl_{50}=5,1$; $\alpha_v\beta_5 pCl_{50}=6,5$; $\alpha_v\beta_8 pCl_{50}=7,1$.

5 Las figuras citadas son valores de pCl_{50} medios.

Permeabilidad en células MDCK

10 Se determinó la permeabilidad de membrana pasiva del ejemplo 1, ejemplo 2 y ejemplo 5 (todos como zwitterión), en células de riñón canino Madin-Darby con multiresistencia 1 (MDCKII-MDR1), a pH 7,4 en presencia del potente inhibidor de la P-glucoproteína GF120918. Cada compuesto se incubó por duplicado a una concentración de 3 μ M en cada caso de prueba. En este ensayo, la permeabilidad aparente pasiva (P_{app}) del ejemplo 1 fue 68 nm/s (casos de prueba n=2) y para el ejemplo 2 fue 20 nm/s (caso de prueba n=1). Para el ejemplo 5 P_{app} fue 90 nm/s (± 26 nm/s; casos de prueba n=3).

15 Se observó que, aunque los dos ejemplos 1 y ejemplo 2 diastereoisómeros, tenían afinidad similar *in vitro* en el ensayo de adhesión celular $\alpha_v\beta_6$ (ejemplo 1 $pCl_{50}=8,0$; ejemplo 2 $pCl_{50}=7,9$), tenían permeabilidad diferente en células MDCK (ejemplo 1 $P=68$ nm/s y ejemplo 2 $P=20$ nm/s). Se espera reflejar esto mediante el ejemplo 1 que tiene una disponibilidad por vía oral más alta que el ejemplo 2 *in vivo* en estudios farmacocinéticos.

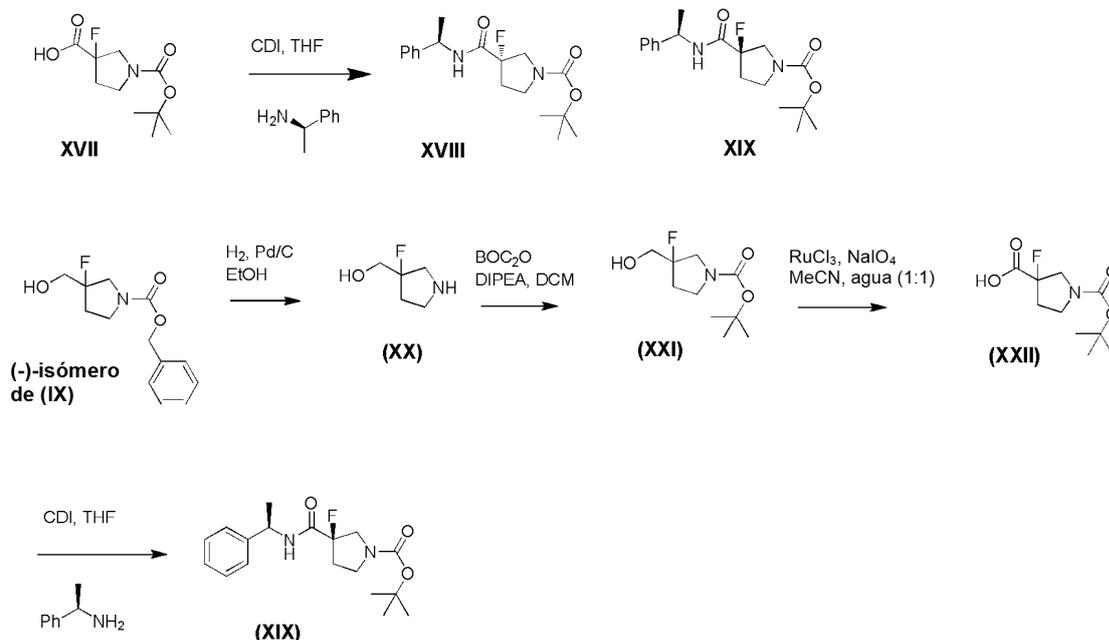
Identificación de la configuración absoluta de compuestos de fórmula estructural (I)

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

20 La síntesis de las moléculas diana (IA) comenzó por separado con cada enantiómero del compuesto intermedio de fórmula estructural (IX). Este material se adquirió de Wuxi App Tec bien como el (+)-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo o como el (-)-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo y cada uno proporcionó un diastereoisómero principal de (IA) que era más potente que el diastereoisómero secundario. No se conocía la configuración absoluta de cada uno de los enantiómeros de 3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (IX), y se abordaron los siguientes experimentos resumidos en el esquema 3 para establecer su configuración.

25 Se convirtió una mezcla racémica de ácido 1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidin-3-carboxílico (XVII) [Chemical Abstracts número de registro 1001754-59-1] (disponible de Wuxi App Tec) en la *N*- α -metilbencilamida por reacción del ácido (XVII) primero con carbonildiimidazol (CDI), seguido de (+)-(*R*)- α -metilbencilamina. Esto proporcionó una mezcla diastereoisómera de amidas, separable mediante cromatografía sobre gel de sílice (P. K. Mykhailiuk *et. al.* «Convenient synthesis of enantiopure (*R*) - and (*S*)-3-fluoro-3-aminomethylpyrrolidines», *Tetrahedron* **2014**, *70*, 3011-3017). Se estableció la configuración del isómero más polar de manera independiente mediante tanto los estudios de Mykhailiuk como los nuestros por difracción de rayos X y se mostró que era (*S*)-3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo [compuesto (XVIII)] (figura 1), y por ende para el isómero menos polar como (*R*)-3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo [compuesto (XIX)]. Además, esto proporcionó materiales de referencia para la comparación con el compuesto obtenido por la secuencia muestra en el esquema III. Aunque nuestros datos de rayos X sobre el isómero polar [compuesto (XVIII)] estaban de acuerdo con la estructura de cristal de rayos X indicada por Mykhailiuk *et. al.*, el espectro de RMN de 1 H difería de nuestro espectro obtenido. Los espectros para los dos diastereoisómeros [compuestos (XVIII) y (XIX)] eran muy similares; sin embargo, había una pequeña diferencia de diagnóstico para el protón C4 de la pirrolidina. Se observó a 2,22 ppm. Mykhailiuk indicó que estaba a 2,15 ppm.

40 El (-)-enantiómero del compuesto de fórmula estructural (IX) [(-)-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo], que proporcionó el diastereómero de (IA) ejemplo 2, se hidrogenó sobre Pd/C al 10 % en etanol para retirar el grupo protector CBZ, y la amina resultante (XX) se protegió con dicarbonato de di-*terc*-butilo para dar (-)-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (XXI). Se oxidó el último con tricloruro de rutenio y peryodato de sodio en acetonitrilo-agua. A continuación, se convirtió el ácido carboxílico (XXII) resultante en la amida como antes usando CDI y (+)-(*R*)- α -metilbencilamina. Esta amida se comparó con las muestras de amida (XVIII) y (XIX) de referencia y se encontró que era idéntica, mediante espectroscopía de RMN, rotación óptica y HPLC quiral, a (*R*)-3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (XIX). El (-)-enantiómero de (IX) es el isómero que proporciona los diastereoisómeros (IA3) y (IA4) y estos tienen la configuración (*R*) en el centro asimétrico de la pirrolidina. El (+)-enantiómero de (IX) proporcionó (IA1) y (IA2), que tienen la configuración absoluta (*S*) en el centro asimétrico de la pirrolidina.

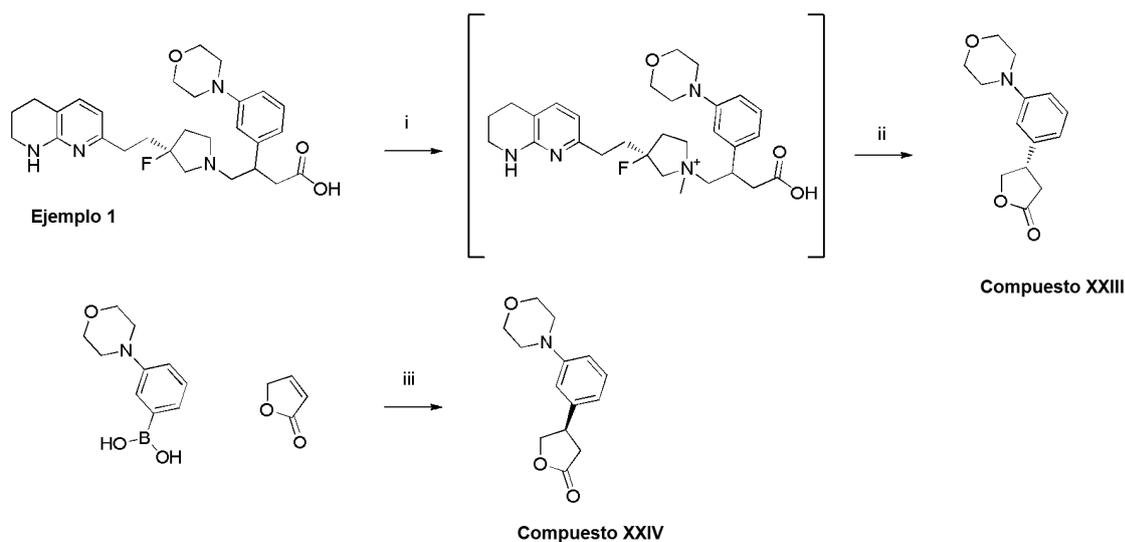


Esquema III. Identificación de la configuración absoluta del centro asimétrico de la 3-fluoropirrolidina

Identificación de la configuración absoluta del centro asimétrico bencílico

5 La configuración absoluta del centro asimétrico bencílico del ejemplo 1 se obtuvo mediante el experimento de degradación mostrado en el esquema IV. Por lo tanto, se trató el ejemplo 1 con yoduro de metilo en DCM a temperatura ambiente durante la noche para cuaternizar el nitrógeno de la pirrolidina y, a continuación, se añadió carbonato de

10 (-)-isómero de (IX)



15 Esquema IV. Reactivos y condiciones: i) MeI, DCM, temperatura ambiente, 18 h; ii) K₂CO₃, 120 °C, 1 h; iii) tetrafluoroborato de bis(norbornadieno)rodio(I) y (R)-BINAP, KOH, 1,4-dioxano, 100 °C, 1 h.

Adicionalmente, se confirmó de forma independiente la configuración del compuesto XXIII por un estudio de difracción de rayos X y se demostró que era (S) (figura 2).

Basándose en los experimentos anteriores para identificar la configuración absoluta de cada centro asimétrico en el compuesto de fórmula estructural (I) la configuración absoluta de los ejemplos se resume como sigue:

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

Parte experimental

- 10 (S)-3-fluoro-3-(((R)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XVIII) y (R)-3-fluoro-3-(((R)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XIX)

- 15 Se trató una solución de ácido (\pm)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidin-3-carboxílico (compuesto XVII) [número de registro de Chemical Abstracts 1001754-59-1] (disponible de Wuxi App Tec) (3,00 g, 12,9 mmol) en THF (70 ml) a temperatura ambiente con CDI sólido (2,5 g, 15,4 mmol) y, a continuación, se calentó la mezcla a 80 °C durante 1,5 h. Se añadió (R)-(+)- α -metilbencilamina (disponible de Fluka) (1,6 g, 13,2 mmol) a esta temperatura y, a continuación, se calentó la mezcla durante 1,5 h adicional a 80 °C. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo y se lavó con HCl diluido, NaHCO₃, salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se dejó que se evaporara lentamente a temperatura ambiente. Finalmente se concentró la mezcla a presión reducida ya que no se separó mediante cristalización ningún sólido. Se purificó el residuo por cromatografía en cartuchos de sílice (2 x 100 g) eluyendo con EtOAc al (0-25) % - ciclohexano durante 40 min. Se obtuvo el compuesto que se eluyó en primer lugar como una espuma blanca (1,54 g, 36 %): CLEM (sistema A) TR = 1,17 min, ES+vo *m/z* 337 (M+H)⁺; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) 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) contenía aproximadamente un 10 % del diastereómero más polar; [α]_D²⁰ +61 (c = 1,27 en MeOH); HPLC quiral analítica 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, detectándose a 215 nm. Se purificó adicionalmente una porción de 50 mg de esta muestra en un cartucho de sílice (20 g) eluyendo con EtOAc al (0-25) % - ciclohexano durante 20 min. Se evaporó la fracción apropiada a presión reducida para dar una muestra analíticamente pura (30 mg) de (R)-3-fluoro-3-(((R)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XIX) CLEM (sistema C) TR = 1,16 min, ES+vo *m/z* 337 (M+H)⁺ y 354 (M+NH₄)⁺ y ES-vo *m/z* 335 (M-H)⁻; [α]_D²⁰ +63 (c=0,933 en MeOH).

- 20 Se cristalizó el segundo compuesto que eluyó de la columna (diastereómero más polar) (1,2 g, 28 %) a partir de éter para dar cristales blancos de (S)-3-fluoro-3-(((R)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XVIII): p. f. = 113 °C a 115 °C; CLEM (sistema C) TR = 1,16 min, ES+vo *m/z* 337 (M+H)⁺; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) 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 (s. a., 1H), 7,27-7,40 (m, 5H); [α]_D²⁰ +73 (c = 0,876 en MeOH); HPLC quiral analítica 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, detectándose a 215 nm. Se estableció la configuración absoluta de este diastereómero a partir de un estudio de difracción de rayos X.

(R)-(-)-(3-fluoropirrolidin-3-il)metanol (compuesto XX)

- 35 Se hidrogenó una solución de (-)-*N*-CBZ-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidina, (-)-isómero de compuesto (IX), (disponible de Wuxi App Tec) (4,0 g, 15,8 mmol) sobre Pd/C al 10 % (400 mg) en etanol (150 ml) durante la noche. Se retiró el catalizador mediante filtración a través de celite y se lavó con etanol. Se evaporaron el líquido filtrado y los lavados a presión reducida para dar *el compuesto del título* (2,0 g, 106 %, contenía parte de etanol por RMN) como un aceite amarillo, que solidificó en un sólido ceroso: CLEM (sistema C) TR = 0,22 min, ES+vo *m/z* 120 (M+H)⁺ y ES-vo *m/z* 118 (M-H)⁻. Se secó adicionalmente el producto en un concentrador con nitrógeno a 40 °C. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) 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 (s. a., 2H), 2,10-1,98 (m, 1H), 1,94-1,81 (m, 1H); [α]_D²⁰ = -4 (c = 1,19 en EtOH).

(R)-(-)-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XXI)

- 40 Se trató una solución de (R)-3-fluoropirrolidin-3-il)metanol (compuesto XX) (1,88 g, 15,8 mmol) en DCM (15 ml) y diisopropiletamina (4,13 ml, 23,7 mmol) con dicarbonato de di-*terc*-butilo (3,79 g, 17 mmol) y se agitó la mezcla a 20 °C durante 3 h. Se dividió la mezcla entre HCl 2M y DCM y se separó en un cartucho separador de fases. Se concentró la capa orgánica a presión reducida y se purificó el residuo por cromatografía en un cartucho de sílice (70 g) eluyendo con un gradiente de EtOAc al (0-50) %-ciclohexano durante 40 min. Se comprobaron las fracciones por TLC en sílice (EtOAc al 50 %-ciclohexano) y se tiñó con solución de KMnO₄. Se combinaron las fracciones apropiadas y se evaporó a presión reducida para dar *el compuesto del título* (2,73 g, 79 %) como un aceite incoloro: CLEM (sistema C) TR = 0,79 min, ES+vo *m/z* 220 (M+H)⁺ y 439 (2M+H)⁺; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) 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]_D²⁰ = 28

(c = 3,51 en CHCl₃).

(*R*)-3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XIX)

Se trató una solución de (-)-3-fluoro-3-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XXI) (200 mg, 0,9 mmol) en MeCN (1 ml) y agua (1 ml) con RuCl₃ (9,5 mg, 0,05 mmol) y peryodato de sodio (976 mg, 4,5 mmol) y se agitó la mezcla a 20 °C durante 16 h. Se acidificó la mezcla con HCl 1 M (5 ml) y se dividió en DCM. Se volvió a extraer dos veces la fase acuosa con DCM y se separaron las fases en un cartucho de separación de fases. Se evaporó la solución orgánica en un concentrador para dar ácido (*R*)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidin-3-carboxílico (compuesto XXII) (125 mg, 59 %): EM ES-vo *m/z* 232 (M-H)⁻. Se disolvió el ácido (125 mg, 0,54 mmol) en acetato de etilo (10 ml) y se trató con CDI (360 mg, 2,2 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h y, a continuación, se calentó a 50 °C durante 0,5 h. Se concentró la mezcla en un concentrador, se disolvió el residuo en THF (6 ml) y se trató con (*R*)-(+)- α -metilbencilamina (200 mg, 1,9 mmol) y se agitó a 20 °C durante 1,5 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo y se lavó con solución de HCl 2 M dos veces, seguido de salmuera. Se secó la solución orgánica (MgSO₄) y se evaporó a presión reducida para dar un sólido gris (290 mg). Se disolvió el residuo en MeOH-DMSO (1:1; 3 ml) y se purificó por MDAP en una columna XSELECT CSH C18 (150 mm x 30 mm D. I., diámetro de empaquetado de 5 μ m) a temperatura ambiente, eluyendo con un gradiente del (30-85) % (bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución ac. de amoniaco-acetonitrilo) en funcionamiento durante 30 min, detectándose a 254 nm y recogiendo el máximo con TR = 17,4 min, ES+vo *m/z* 337 (M+H)⁺. Se concentró la fracción en un concentrador a 45 °C en nitrógeno y se extrajo la suspensión residual con EtOAc. Se lavó la solución orgánica con HCl 2 M dos veces y, a continuación, con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó a presión reducida para dar una goma amarilla (35 mg). Se repurificó la goma por MDAP en una columna XBridge C18 (100 mm x 19 mm D. I. diámetro de empaquetamiento de 5 μ m) a temperatura ambiente eluyendo con un gradiente de (bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución ac. de amoniaco-acetonitrilo) en funcionamiento durante 25 min, detectándose a 254 nm) recogiendo la primera fracción (TR = 10 min). Se retiró el disolvente en un concentrador con nitrógeno a 45 °C para dar *el compuesto del título* (16 mg, 5 %) como una goma incolora: CLEM (sistema C) TR = 1,16 min, ES+vo *m/z* 337 (M+H)⁺, 354 (M+NH₄)⁺; HPLC quiral analítica 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, detectándose a 215 nm; [α]_D²⁰ +63 (c = 1,15 en MeOH). El espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) así como la rotación óptica y el TR de HPLC quiral coinciden todos con el de (*R*)-3-fluoro-3-(((*R*)-1-feniletil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (compuesto XIX).

Determinación de la configuración absoluta del centro asimétrico bencílico del ejemplo 1 por degradación a (+)-(*S*)-4-(3-morfolinofenil)dihidrofuran-2(3*H*)-ona (compuesto XXIII)

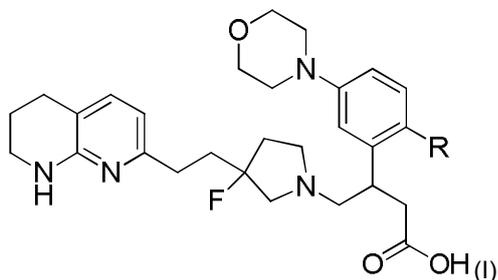
Se trató una solución de ácido (*S*)-4-((*S*)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico (ejemplo 1) (100 mg, 0,201 mmol) en DCM (8 ml) a temperatura ambiente con yodometano (0,195 ml, 3,13 mmol) y se agitó durante 18 h. Se concentró la reacción al vacío (para retirar el exceso de yodometano). Se redisolvió el residuo en DCM (5 ml) y se añadió carbonato de potasio (122 mg, 0,884 mmol). Se calentó la reacción en un reactor de microondas a 120 °C durante 1 h. Se filtró la solución y se concentró al vacío. Se purificó el aceite residual por cromatografía en columna sobre sílice (10 g) eluyendo con un gradiente de TBME al (0-100) % en ciclohexano. Se concentraron las fracciones relevantes al vacío para dar (*S*)-4-(3-morfolinofenil)dihidrofuran-2(3*H*)-ona (compuesto XXIII) (32 mg, 64 %) como un sólido blanco: CLEM (sistema C) TR = 0,82 min, 100 %, ES+vo *m/z* 247 (M+H)⁺; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) 7,32-7,26 (m, 1H), 6,89-6,84 (m, 1H), 6,79-6,73 (m, 2H), 4,67 (dd, *J* = 9,8 Hz, 1H), 4,30 (dd, *J* = 9,06; 7,5 Hz, 1H), 3,92-3,85 (m, 4H), 3,76 (quin., *J* = 8,31 Hz, 1H), 3,21-3,17 (m, 4H), 2,93 (dd, *J* = 17,5 Hz; 8,7 Hz, 1H), 2,93 (dd, *J* = 17,5 Hz; 8,7 Hz, 1H), 2,70 (dd, *J* = 17,5 Hz; 8,7 Hz, 1H); [α]_D²² = +37,1 (c = 1,40 en CHCl₃); HPLC quiral TR = 25,4 min en una columna Chiralpak ID (25 cm x 4,6 mm) eluyendo con isopropanol al 20 %-heptano, caudal 1 ml/min, detectándose a 215 nm. Se recristalizó una porción de compuesto XXIII a partir de cloroformo por cristalización lenta para proporcionar cristales que fueran adecuados para un estudio de difracción de rayos X.

Síntesis de (*R*)-4-(3-morfolinofenil)dihidrofuran-2(3*H*)-ona (compuesto XXIV) auténtica para la comparación con el compuesto (XXIII)

Se trató una solución de tetrafluoroborato de bis(norbornadieno)rodio(I) (disponible de Aldrich) (18,70 mg, 0,05 mmol) y ácido (3-morfolinofenil)borónico (1035 mg, 5,00 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) con furan-2(5*H*)-ona (0,142 ml, 2,0 mmol) y solución de KOH (3,8 M, 1,053 ml, 4,00 mmol). Se calentó la solución resultante a 100 °C durante 1 h en un reactor de microondas. Se dejó enfriar la reacción y se concentró al vacío para dar un aceite marrón. Se purificó el residuo por cromatografía (cartucho KPNH, 50 g) eluyendo con un gradiente de EtOAc al (0-50) % en ciclohexano durante 45 min. Se concentraron las fracciones relevantes al vacío para dar (*R*)-4-(3-morfolinofenil)dihidrofuran-2(3*H*)-ona (compuesto XXIV) (132 mg, 27 %) como un sólido blanco: CLEM (sistema C) TR = 0,82 min, 100 %, ES+vo *m/z* 248 (M+H)⁺; [α]_D²² = -28,3 (c = 1,70 en CHCl₃); HPLC quiral TR = 23,4 min, 94 %, TR = 25,4 min 6 % en una columna Chiralpak ID (25 cm x 4,6 mm) eluyendo con isopropanol al 20 %-heptano, caudal 1 ml/min, detectándose a 215 nm.

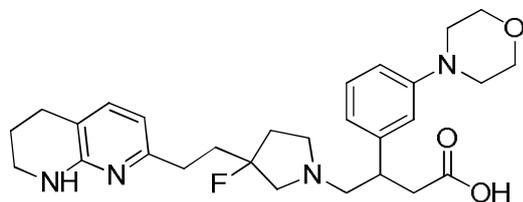
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



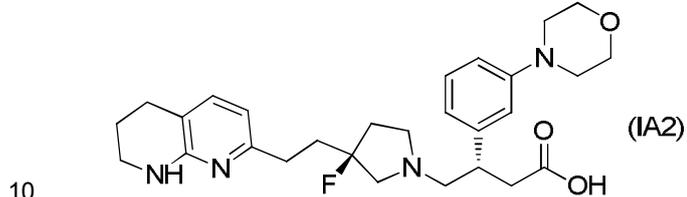
en donde R representa H o F, o una sal del mismo.

5 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, de fórmula (IA):



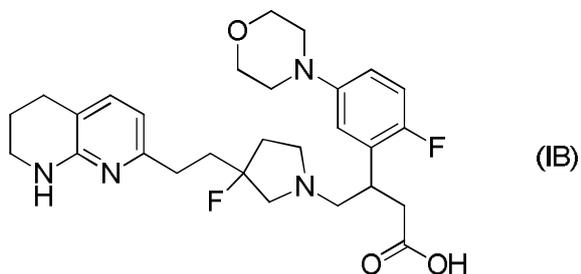
que es ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico o una sal del mismo.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o con la reivindicación 2, que tiene la fórmula (IA2):



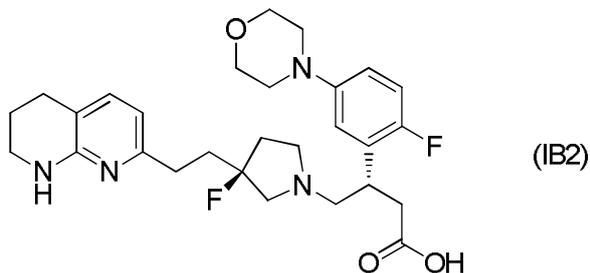
10 ácido (S)-4-((S)-3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(3-morfolinofenil)butanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, de fórmula (IB)



15 ácido 4-(3-fluoro-3-(2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftiridin-2-il)etil)pirrolidin-1-il)-3-(2-fluoro-5-morfolinofenil)butanoico o una sal del mismo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 4, que tiene la fórmula (IB2):



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

- 5 6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.
7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o una afección para la que está indicado un antagonista del receptor $\alpha_v\beta_6$.
- 10 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de fibrosis pulmonar idiopática.
9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 15 10. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9, en una forma adaptada para su administración oral.

Figura 1. Estructura cristalina de rayos X del compuesto (XVIII)

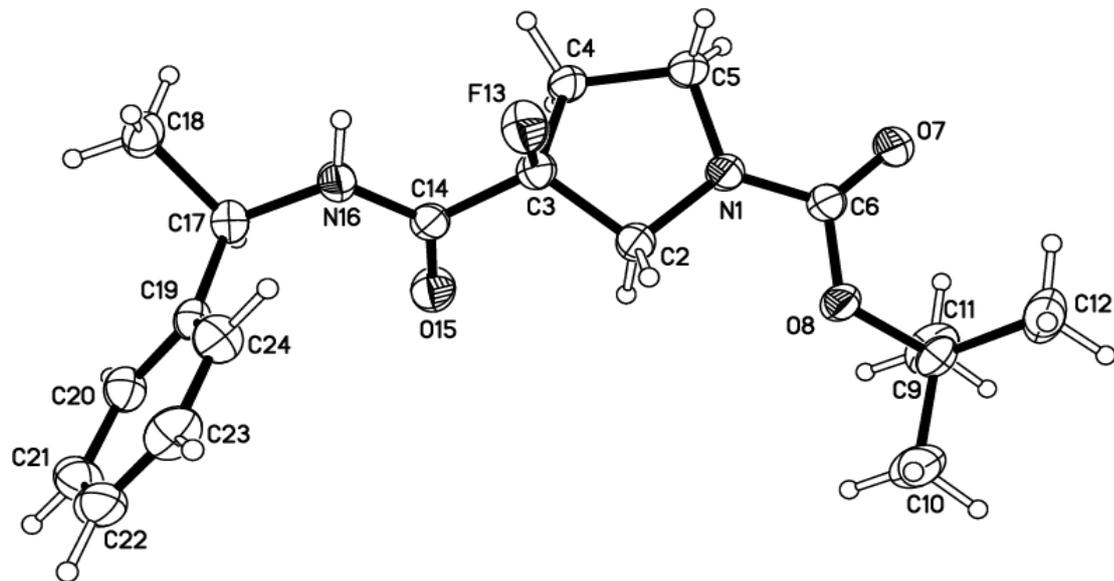


Figura 2. Estructura cristalina de rayos X del compuesto XXIII

