



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 989 887**

⑫ Int. Cl.:

A61P 1/16 (2006.01) **A61K 31/422** (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01) **A61K 31/4439** (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
C07D 261/08 (2006.01)
C07D 413/04 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2020 PCT/US2020/037840**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **24.12.2020 WO20257138**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2020 E 20736820 (0)**

⑨ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2024 EP 3986552**

④ Título: **Ácidos isoxazol carboxílicos como antagonistas del LPA**

⑩ Prioridad:

18.06.2019 US 201962862930 P

⑤ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.11.2024

⑩ Titular/es:

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

⑪ Inventor/es:

CHENG, PETER TAI WAH;
ZHANG, HAO;
KALTENBACH, III, ROBERT F.;
LI, JUN;
WALKER, STEVEN J. y
SHI, YAN

⑫ Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 989 887 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

Ácidos isoxazol carboxílicos como antagonistas del LPA

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos de ácido isoxazol carboxílico novedosos y a composiciones que los contienen, y a los compuestos y composiciones para su uso en métodos, por ejemplo, para el tratamiento de trastornos asociados a uno o más de los receptores del ácido lisofosfatídico (LPA, por sus siglas en inglés).

10

Antecedentes de la invención

Los lisofosfolípidos son mediadores lipídicos bioactivos derivados de membrana, de los que uno de los más importantes desde el punto de vista médico es el ácido lisofosfatídico (LPA). El LPA no es una entidad molecular única, 15 sino una colección de variantes estructurales endógenas con ácidos grasos de longitudes y grados de saturación variados (Fujiwara *et al.*, *J Biol. Chem.*, 2005, 280, 35038-35050). La cadena principal estructural de los LPA deriva de fosfolípidos a base de glicerol tales como la fosfatidilcolina (PC) o el ácido fosfatídico (PA).

20 Los LPA son lípidos bioactivos (lípidos de señalización) que regulan diversas vías de señalización celular al unirse a la misma clase de receptores acoplados a proteína G de 7 dominios transmembrana (GPCR) (Chun, J., Hla, T., Spiegel, S., Moolenaar, W., Editores, *Lysophospholipid Receptors: Signaling and Biochemistry*, 2013, Wiley; ISBN: 978-0-470-56905-4 y Zhao, Y. *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Mol. Cell Biol. Of Lipids*, 2013, 1831, 86-92). Los receptores de LPA conocidos actualmente se designan como LPA₁, LPA₂, LPA₃, LPA₄, LPA₅ y LPA₆ (Choi, J. W., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2010, 50, 157-186; Kihara, Y., *et al.*, *Br. J. Pharmacol.*, 2014, 171, 3575-3594).

25

Los LPA se conocen desde hace mucho tiempo como precursores de la biosíntesis de fosfolípidos en las células eucariotas y procariotas, pero los LPA han emergido recientemente como moléculas de señalización que las células activadas producen y liberan rápidamente, especialmente las plaquetas, para influir en las células diana al actuar sobre receptores específicos de la superficie celular (véase, por ejemplo, Moolenaar *et al.*, *BioEssays*, 2004, 26, 870-881 y van Leeuwen *et al.*, *Biochem. Soc. Trans.*, 2003, 31, 1209-1212). Además de sintetizarse y procesarse a fosfolípidos más complejos en el retículo endoplasmático, los LPA pueden generarse a través de la hidrólisis de fosfolípidos preexistentes después de la activación celular; por ejemplo, a la posición sn-2 le falta comúnmente un resto de ácido graso debido a la desacilación, dejando sólo el hidroxilo sn-1 esterificado a un ácido graso. Asimismo, una enzima clave en la producción de LPA, la autotaxina (lysoPLD/NPP2), puede ser el producto de un oncogén, ya que muchos tipos de tumor regulan positivamente la autotaxina (Brindley, D., *J. Cell Biochem.* 2004, 92, 900-12). Se han publicado las concentraciones de LPA en plasma y suero humano así como en el líquido de lavado broncoalveolar (LLBA) humano, incluyendo determinaciones hechas usando procedimientos de CL/EM y CL/EM/EM sensibles y específicos (Baker *et al.* *Anal. Biochem.*, 2001, 292, 287-295; Onorato *et al.*, *J. Lipid Res.*, 2014, 55, 1784-1796).

30

El LPA influye en una amplia gama de respuestas biológicas, que varían entre la inducción de la proliferación celular, la estimulación de la migración celular y la retracción de neuritas, el cierre de la unión de huecos e incluso quimiotaxis de moho limo (Goetzl, *et al.*, *Scientific World J.*, 2002, 2, 324-338; Chun, J., Hla, T., Spiegel, S., Moolenaar, W., Editores, *Lysophospholipid Receptors: Signaling and Biochemistry*, 2013, Wiley; ISBN: 978-0-470-56905-4). El cuerpo de conocimiento sobre la biología del LPA continúa creciendo a medida que se someten a ensayo más y más sistemas celulares para determinar la capacidad de respuesta al LPA. Por ejemplo, ahora se sabe que, además de estimular el crecimiento y la proliferación celular, los LPA promueven la tensión celular y la unión de fibronectina a la superficie celular, que son eventos importantes en la reparación y regeneración de heridas (Moolenaar *et al.*, *BioEssays*, 2004, 26, 870-881). Recientemente, también se ha atribuido actividad antiapoptótica al LPA y recientemente se ha informado que PPAR γ es un receptor/diana para LPA (Simon *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2005, 280, 14656-14662).

35

50 La fibrosis es el resultado de un proceso de cicatrización de tejido descontrolado que conduce a una acumulación excesiva y una resorción insuficiente de la matriz extracelular (MEC) que finalmente da como resultado el fallo terminal del órgano (Rockey, D. C., *et al.*, *New Engl. J. Med.*, 2015, 372, 1138-1149). Se ha informado que el receptor LPA₁ está sobreexpresado en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (IPF, por sus siglas en inglés). Los ratones con inactivación génica del receptor LPA₁ estaban protegidos de la fibrosis pulmonar inducida por bleomicina (Tager *et al.*, *Nature Med.*, 2008, 14, 45-54). Se demostró que el antagonista de LPA₁ BMS-986020 reduce significativamente la tasa de disminución de la FVC (capacidad vital forzada, por sus siglas en inglés) en un ensayo clínico de 26 semanas en pacientes con IPF (Palmer *et al.*, *Chest*, 2018, 154, 1061-1069). Se demostró que los inhibidores de la vía del LPA (por ejemplo, un antagonista de LPA₁) eran agentes antifibróticos quimiopreventivos en el tratamiento del carcinoma hepatocelular en un modelo de rata (Nakagawa *et al.*, *Cancer Cell*, 2016, 30, 879-890).

45

60 Por lo tanto, antagonizar el receptor LPA₁ puede ser útil para el tratamiento de la fibrosis tal como la fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis arterial y esclerosis sistémica y, por lo tanto, las enfermedades resultado de la fibrosis (fibrosis pulmonar-fibrosis pulmonar idiopática [IPF, del inglés "Idiopathic Pulmonary Fibrosis"], fibrosis hepática: esteatohepatitis no alcohólica [NASH, del inglés "Non-alcoholic Steatohepatitis"], fibrosis renal-nefropatía diabética, esclerosis sistémica-esclerodermia, etc.).

Los documentos US 2006/0194850, WO 2010/141768, WO 2011/017350 y WO 2017/223016 divultan compuestos de azol para su uso como inhibidores del LPA, que son útiles para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades que implican al receptor de LPA.

5

Sumario de la invención

Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

La presente invención proporciona compuestos de ácido isoxazol carboxílico que incluyen estereoisómeros, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables o solvatos de los mismos, que son útiles como antagonistas frente a uno o más de los receptores del ácido lisofosfatídico (LPA), en especial el receptor LPA₁.

15

También se describen (pero no se reivindican) procesos e intermedios para fabricar los compuestos de la presente invención.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y al menos uno de los compuestos de la presente invención o estereoisómeros, tautómeros, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos de los mismos.

Los compuestos de la invención pueden usarse en el tratamiento de afecciones en que las que el LPA desempeña una función.

25

Los compuestos de la presente invención pueden usarse en terapia.

Los compuestos de la presente invención pueden usarse para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección en la que la inhibición de la actividad fisiológica del LPA es útil, tal como enfermedades en las que participa un receptor de LPA, está implicado en la etiología o patología de la enfermedad o se asociado de otro modo a al menos un síntoma de la enfermedad.

Los compuestos de la invención pueden usarse en un método de tratamiento de la fibrosis de órganos (hígado, riñón, pulmón, corazón y similares así como piel), enfermedades hepáticas (hepatitis aguda, hepatitis crónica, fibrosis hepática, cirrosis hepática, hipertensión portal, fallo regenerativo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), hipofunción hepática, trastorno del flujo sanguíneo hepático y similares), enfermedad de las células proliferativas [cáncer (tumor sólido, metástasis de tumores sólidos, fibroma vascular, mieloma, mieloma múltiple, sarcoma de Kaposi, leucemia, leucemia linfocítica crónica (CLL, por sus siglas en inglés) y similares) y metástasis invasiva de células cancerosas y similares], enfermedad inflamatoria (psoriasis, nefropatía, neumonía y similares), enfermedad del tracto gastrointestinal (síndrome del intestino irritable (IBS, por sus siglas en inglés), enfermedad inflamatoria intestinal (IBD, por sus siglas en inglés), secreción pancreática anormal y similares), nefropatía, enfermedad asociada al tracto urinario (hiperplasia prostática benigna o síntomas asociados a la enfermedad de la vejiga neuropática, tumor de la médula espinal, hernia de disco intervertebral, estenosis del canal espinal, síntomas derivados de la diabetes, enfermedad del tracto urinario inferior (obstrucción de tracto urinario inferior y similares), enfermedad inflamatoria del tracto urinario inferior, disuria, micción frecuente y similares), enfermedad pancreática, enfermedad asociada a angiogénesis anormal (obstrucción arterial y similares), esclerodermia, enfermedad asociada al cerebro (infarto cerebral, hemorragia cerebral y similares), dolor neuropático, neuropatía periférica y similares, enfermedad ocular (degeneración macular relacionada con la edad (AMD, por sus siglas en inglés), retinopatía diabética, vitreoretinopatía proliferativa (PVR, por sus siglas en inglés), penfigoide cicatricial, cicatrización por cirugía de filtración de glaucoma y similares).

50

Los compuestos de la invención pueden usarse en un método de tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones en los que la activación de al menos un receptor de LPA por el LPA contribuye a la sintomatología o progresión de la enfermedad, trastorno o afección. Estas enfermedades, trastornos o afecciones pueden surgir de una o más de entre una etiología genética, yatrogénica, inmunitaria, infecciosa, metabólica, oncológica, tóxica, quirúrgica y/o traumática.

55

Los compuestos de la invención pueden usarse en un método de tratamiento de la fibrosis renal, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis arterial y esclerosis sistémica, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento un compuesto de la presente invención como se ha descrito anteriormente.

60

Los compuestos de la invención pueden usarse solos, en combinación con otros compuestos de la presente invención o en combinación con uno o más, preferentemente uno o dos agentes distintos.

65

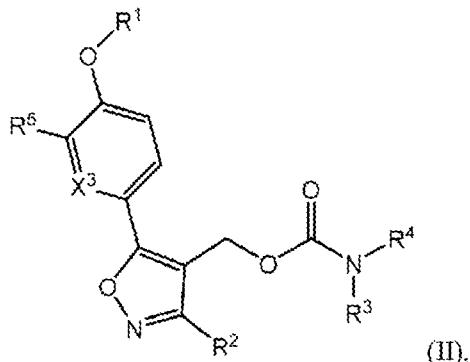
Estas y otras características de la invención se expondrán ampliamente conforme continúe la divulgación.

Descripción detallada de la invención

I. COMPUESTOS DE LA INVENCION

En un 1.^{er} aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (II):

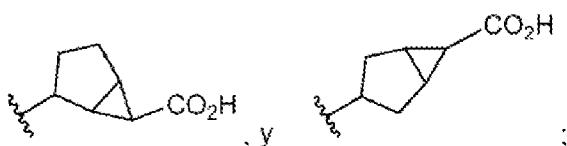
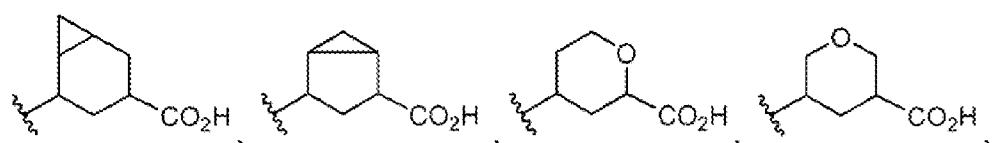
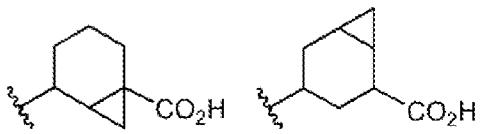
5



o un estereoisómero, un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, en donde:

10 X^3 es independientemente CH o N;

R¹ se selecciona independientemente de:



15 R^2 es independientemente alquilo C_{1-4} ;

R³ se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₄ y alquilo C₁₋₄ (total o parcialmente deuterado);

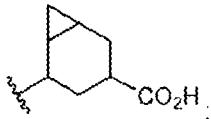
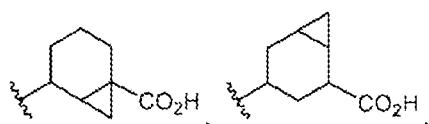
R^4 se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₆ y alquilo C₃₋₄ (excepto para cuando se selecciona H), R^4 se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₆, -(CH₂)₀₋₂-(cicloalquilo C₃₋₆) y -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆); y R^5 es independientemente H o alquilo C₁₋₄.

20 En un 2.^º aspecto, dentro del alcance del 1.^{er} aspecto, en donde:

X^3 es independientemente CH o N;

R^1 se selecciona independientemente de:

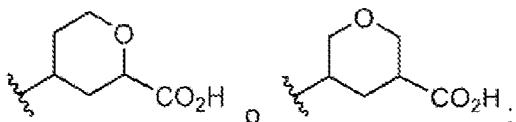
25



- 5 R² es CH₃;
 R³ es independientemente CH₃ o CD₃;
 R⁴ se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ y -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆); y
 R⁵ es H.

En un 3.^{er} aspecto, dentro del alcance del 1.^{er} aspecto, en donde:

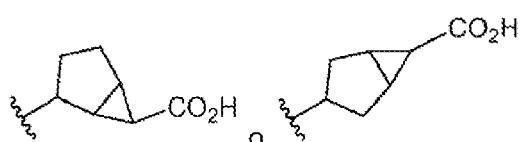
- 10 X³ es CH;
 R¹ es independientemente



- 15 R² es CH₃;
 R³ es CH₃; y
 R⁴ es independientemente alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆; y
 R⁵ es H.

En un 4.^o aspecto, dentro del alcance del 1.^{er} aspecto, en donde:

- 20 X³ es independientemente CH o N;
 R¹ es independientemente

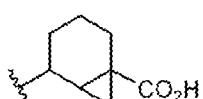


- 25 R² es CH₃;
 R³ es CH₃; y
 R⁴ se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ y -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆); y
 R⁵ es H.

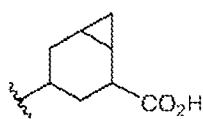
- 30 En una realización, X³ es CH.

En una realización, X³ es N.

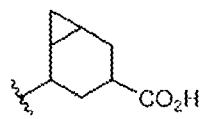
- 35 En una realización, R¹ es



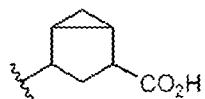
- 40 En una realización, R¹ es



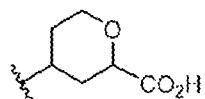
En una realización, R¹ es



- 45 En una realización, R¹ es

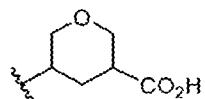


En una realización, R¹ es



5

En una realización, R¹ es



10

En una realización, R¹ es



15 En una realización, R¹ es



En una realización, R² es CH₃.

20

En una realización, R³ es independientemente CH₃ o CD₃.

En una realización, R³ es CH₃.

25 En una realización, R³ es CD₃.

En una realización, R⁴ es independientemente alquilo C₁₋₆.

30 En una realización, R⁴ es independientemente -(CH₂)₀₋₂-(cicloalquilo C₃₋₆) o -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆).

En una realización, R⁴ es independientemente -(CH₂)₀₋₂-(cicloalquilo C₃₋₆).

En una realización, R⁴ es independientemente -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆).

35 En una realización, R⁵ es alquilo C₁₋₄.

En una realización, R⁵ es CH₃.

En una realización, R⁵ es H.

40

En una realización de la presente invención, el compuesto se selecciona de uno cualquiera de los Ejemplos que se describen en la memoria descriptiva o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

45 En otra realización de la presente invención, el compuesto se selecciona de los Ejemplos 1 a 16 que se describen en la memoria descriptiva o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

50 Los compuestos de la presente invención pueden tener valores de IC₅₀ de hLPA₁ ≤ 5000 nM, usando el ensayo de antagonista funcional de LPA₁; los compuestos de la presente invención pueden tener valores de IC₅₀ de hLPA₁ ≤ 1000 nM; los compuestos de la presente invención pueden tener valores de IC₅₀ de hLPA₁ ≤ 500 nM; los compuestos de la presente invención pueden tener valores de IC₅₀ de hLPA₁ ≤ 200 nM; los compuestos de la presente invención

pueden tener valores de IC_{50} de $hLPA_1 \leq 100$ nM; los compuestos de la presente invención pueden tener valores de IC_{50} de $hLPA_1 \leq 50$ nM.

II. OTRAS REALIZACIONES DE LA INVENCIÓN

- 5 El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede ser un antagonista de al menos un receptor de LPA. El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede ser un antagonista de LPA_1 . El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede ser un antagonista de LPA_2 . El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede ser un antagonista de LPA_3 .
- 10 En algunas realizaciones, en el presente documento se presentan compuestos seleccionados de tautómeros, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos de un compuesto de Fórmula (II).
- 15 En otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende al menos uno de los compuestos de la presente invención o un estereoisómero, un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos.
- 20 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de los compuestos de la presente invención o un estereoisómero, un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos.
- 25 También se describe (pero no se reivindica) un proceso para fabricar un compuesto de la presente invención.
- 30 También se describe (pero no se reivindica) un intermedio para fabricar un compuesto de la presente invención.
- 35 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende además un agente o agentes terapéuticos adicionales.
- 40 En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto para su uso en un método para el tratamiento de una afección asociada a fibrosis mediada por el receptor de LPA, comprendiendo el método administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de los compuestos de la presente invención o un estereoisómero, un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos. Como se usa en el presente documento, el término "paciente" abarca todas las especies de mamíferos.
- 45 En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección asociada a la desregulación del receptor 1 del ácido lisofosfatídico (LPA_1) en un paciente que lo necesite, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. En una realización, la enfermedad, trastorno o afección está relacionada con la fibrosis patológica, el rechazo de trasplante, el cáncer, la osteoporosis o trastornos inflamatorios. En una realización, la fibrosis patológica es fibrosis pulmonar, hepática, renal, cardíaca, dérmica, ocular o pancreática. En una realización, la enfermedad, trastorno o afección es fibrosis pulmonar idiopática (IPF), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD, por sus siglas en inglés), nefropatía crónica, nefropatía diabética y esclerosis sistémica. En una realización, el cáncer es de la vejiga, sangre, hueso, cerebro, mama, sistema nervioso central, cuello del útero, colon, endometrio, esófago, vesícula biliar, genitales, tracto genitourinario, cabeza, riñón, laringe, hígado, pulmón, tejido muscular, cuello, mucosa oral o nasal, ovario, páncreas, próstata, piel, bazo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, testículo o tiroides.
- 50 En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto para su uso en un método de tratamiento de la fibrosis en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. En una realización, la fibrosis es fibrosis pulmonar idiopática (IPF), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), nefropatía crónica, nefropatía diabética y esclerosis sistémica.
- 55 En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto para su uso en un método para tratar la fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis renal, lesión renal aguda, nefropatía crónica, fibrosis hepática (esteatohepatitis no alcohólica), fibrosis cutánea, fibrosis del intestino, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de próstata, glioblastoma, cáncer de huesos, cáncer de colon, cáncer de intestino, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, mieloma múltiple, leucemia linfocítica crónica, dolor por cáncer, metástasis tumoral, rechazo de trasplante de órgano, esclerodermia, fibrosis ocular, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), retinopatía diabética, enfermedad vascular por colágeno, ateroesclerosis, fenómeno de Raynaud o dolor neuropático en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

Como se usa en el presente documento, "tratar" o "tratamiento" abarcan el tratamiento de una patología en un mamífero, particularmente en un ser humano, e incluyen: (a) inhibir la patología, es decir, detener su desarrollo; y/o (b) aliviar la patología, es decir, provocar la regresión de la patología. Como se usa en el presente documento, "tratar" o "tratamiento" también incluye el tratamiento protector de una patología para reducir y/o minimizar el riesgo y/o la reducción del riesgo de reaparición de una patología mediante la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de los compuestos de la presente invención o un estereoisómero, un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos. Los pacientes pueden seleccionarse para dicha terapia protectora basándose en factores que se sabe que aumentan el riesgo de padecer una patología clínica en comparación con la población general. Para el tratamiento protector, las afecciones de la patología clínica pueden estar o no presentes todavía. El tratamiento protector puede dividirse en (a) profilaxis primaria y (b) profilaxis secundaria. La profilaxis primaria se define como el tratamiento para reducir o minimizar el riesgo de una patología en un paciente que todavía no ha presentado una patología clínica, mientras que la profilaxis secundaria se define como minimizar o reducir el riesgo de una reaparición o segunda aparición de la misma o similar patología clínica.

15

III. QUÍMICA

A lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, una fórmula química o nombre dados abarcarán todos los estereoisómeros e isómeros ópticos y racematos de los mismos cuando existan dichos isómeros. A menos que se indique otra cosa, todas las formas quirales (enantioméricas y diastereoméricas) y racémicas se encuentran dentro del alcance de la invención. Muchos isómeros geométricos de dobles enlaces C=C, dobles enlaces C=N, sistemas de anillos y similares pueden estar presentes también en los compuestos y todos estos isómeros estables están contemplados en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* (o *E* y *Z*) de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse en forma de una mezcla de isómeros o en formas isoméricas separadas. Los presentes compuestos pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. Pueden prepararse formas ópticamente activas mediante resolución de las formas racémicas o mediante síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos. Se considera que todos los procesos utilizados para preparar los compuestos de la presente invención y los intermedios fabricados con los mismos forman parte de la presente invención. Cuando se preparan productos enantioméricos o diastereoméricos, estos pueden separarse mediante métodos convencionales, por ejemplo, mediante cromatografía o cristalización fraccionada. Dependiendo de las condiciones del proceso, los productos finales de la presente invención se obtienen tanto en forma libre (neutra) como de sal. Tanto la forma libre como las sales de estos productos finales están dentro del alcance de la invención. Si así se desea, una forma de un compuesto puede convertirse en otra forma. Una base libre o ácida puede convertirse en una sal; una sal puede convertirse en el compuesto libre o en otra sal; una mezcla de compuestos isoméricos de la presente invención puede separarse en los isómeros individuales. Los compuestos de la presente invención, la forma libre y las sales de los mismos, pueden existir en múltiples formas tautoméricas, en las que los átomos de hidrógeno se transponen a otras partes de las moléculas y por consiguiente, se reordenan los enlaces químicos entre los átomos de las moléculas. Debe entenderse que todas las formas tautoméricas, en la medida en que puedan existir, se incluyen dentro de la invención.

40

El término "estereoisómero" se refiere a isómeros de constitución idéntica que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio. Los enantiómeros y diastereómeros son ejemplos de estereoisómeros. El término "enantiómero" se refiere a uno de un par de especies moleculares que son imágenes especulares una de otra y no son superponibles. El término "diastereómero" se refiere a estereoisómeros que no son imágenes especulares. El término "racemato" o la expresión "mezcla racémica" se refieren a una composición compuesta de cantidades equimolares de dos especies enantioméricas, en donde la composición está desprovista de actividad óptica.

Los símbolos "R" y "S" representan la configuración de los sustituyentes alrededor de un átomo o átomos quirales. Los descriptores isoméricos "R" y "S" se usan como se describe en el presente documento para indicar la configuración o configuraciones de un átomo con respecto a la molécula central y se pretende que se usen como se define en la bibliografía (*IUPAC Recommendations 1996, Pure and Applied Chemistry*, 68:2193-2222 (1996)).

El término "quiral" se refiere a la característica estructural de una molécula que hace imposible que se superponga sobre su imagen especular. El término "homoquiral" se refiere a un estado de pureza enantiomérica. La expresión "actividad óptica" se refiere al grado al que una molécula homoquiral o una mezcla no racémica de moléculas quirales rota un plano de luz polarizada.

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" o "alquileno" pretende incluir grupos hidrocarburo alifáticos saturados, tanto de cadena ramificada como lineal, que tienen el número especificado de átomos de carbono. Mientras que "alquilo" representa un radical alifático, saturado, monovalente (tal como etilo), "alquileno" representa un radical alifático, saturado, bivalente (tal como etileno). Por ejemplo, "alquilo C₁ a C₁₀" o "alquilo C₁₋₁₀" pretende incluir grupos cicloalquilo C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉ y C₁₀. "Alquileno C₁ a C₁₀" o "alquileno C₁₋₁₀", pretende incluir grupos alquileno C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉ y C₁₀. Adicionalmente, por ejemplo, "alquilo C₁ a C₆" o "alquilo C₁₋₆" representa un alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; y "alquileno C₁ a C₆" o "alquileno C₁₋₆" representa alquileno que tiene de 1 a 6 átomos de carbono; y "alquilo C₁ a C₄" o "alquilo C₁₋₄" representa alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; y "alquileno C₁ a C₄" o "alquileno C₁₋₄" representa un alquileno que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. El

grupo alquilo puede estar sin sustituir o sustituido con al menos un hidrógeno que se reemplaza con otro grupo químico. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo (Me), etilo (Et), propilo (por ejemplo, n-propilo e isopropilo), butilo (por ejemplo, n-butilo, isobutilo, t-butilo) y pentilo (por ejemplo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo). Cuando se usa "alquilo C₀" o "alquileno C₀", se pretende indicar un enlace directo. Además, el término "alquilo", por sí

5 mismo o como parte de otro grupo, tal como alquilamino, haloalquilo, hidroxialquilo, aminoalquilo, alcoxi, alcoxialquilo, haloalcoxialquilo y haloalcoxi, puede ser un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o de 1 a 6 átomos de carbono o de 1 a 10 átomos de carbono.

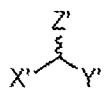
10 El término "cicloalquilo" se refiere a grupos alquilo ciclados, incluyendo sistemas de anillos mono, bi o policíclicos. "Cicloalquilo C₃ a C₈" o "cicloalquilo C₃₋₈" pretende incluir grupos cicloalquilo C₃, C₄, C₅, C₆, C₇ y C₈, incluyendo anillos monocíclicos, bicíclicos y policíclicos. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y norbornilo. Los grupos cicloalquilo ramificados tales como 1-metilciclopropilo y 2-metilciclopropilo y espiro y grupos cicloalquilo puenteados se incluyen en la definición de "cicloalquilo".

15 De acuerdo con una convención utilizada en la técnica, un enlace que señala una línea en negrita, tal como

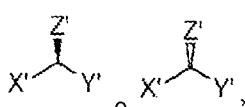


20 como se usa en las fórmulas estructurales en el presente documento, representa el enlace que es el punto de unión del resto o el sustituyente al núcleo o la estructura principal.

De acuerdo con una convención utilizada en la técnica, un enlace ondulado o sinuoso en una fórmula estructural, tal como



30 se usa para representar un centro estereogénico del átomo de carbono al cual X', Y' y Z' están unidos y se pretende representar a ambos enantiómeros en una única figura. Es decir, una fórmula estructural con dicho enlace ondulado indica cada uno de los enantiómeros por separado, tal como



35 así como una mezcla racémica de los mismos. Cuando un enlace ondulado o sinuoso está unido a un resto doble enlace (tal como C=C o C=N), este incluye los isómeros geométricos *cis*- o *trans*- (o *E*- y *Z*-) o una mezcla de los mismos.

40 En el presente documento se entiende que si un resto carbocíclico o heterocíclico puede estar unido o de otro modo enlazado a un sustrato designado mediante diferentes átomos en el anillo sin indicar un punto de unión específico, entonces se prevén todos los puntos posibles, ya sea a través de un átomo de carbono o, por ejemplo, un átomo de nitrógeno trivalente. Por ejemplo, el término "piridilo" significa 2, 3 o 4-piridilo, el término "tienilo" significa 2 o 3-tienilo y así sucesivamente.

45 Cuando se muestra un enlace a un sustituyente que cruza un enlace que conecta dos átomos en un anillo, entonces dicho sustituyente puede unirse a cualquier átomo del anillo. Cuando se enumera un sustituyente sin indicar el átomo en el que dicho sustituyente está unido al resto del compuesto de una fórmula dada, entonces dicho sustituyente puede estar unido a través de cualquier átomo de dicho sustituyente. Las combinaciones de sustituyentes y/o variables sólo se permiten si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables.

50 Un experto en la materia reconocerá qué sustituyentes y otros restos de los compuestos de la presente invención deberían seleccionarse para proporcionar un compuesto que es suficientemente estable para proporcionar un compuesto farmacéuticamente útil, que puede formularse en una composición farmacéuticamente estable. Se contempla que los compuestos de la presente invención que tienen dicha estabilidad están dentro del alcance de la invención.

55 El término "contraión" se usa para representar una especie cargada negativamente tal como cloruro, bromuro, hidróxido, acetato y sulfato. La expresión "ión metálico" se refiere a iones de metales alcalinos tales como sodio, potasio o litio e iones de metales alcalinotérreos tales como calcio, así como cinc y aluminio.

60 Como se cita en el presente documento, el término "sustituido" significa que al menos un átomo de hidrógeno (unido al átomo de carbono o al heteroátomo) se reemplaza con un grupo distinto de hidrógeno, con la condición de que las

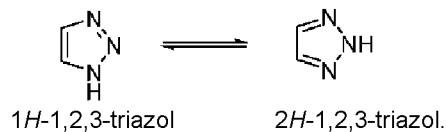
valencias normales se mantengan y que la sustitución dé como resultado un compuesto estable. Cuando un sustituyente es oxo (es decir, =O), entonces se reemplazan 2 hidrógenos en el átomo. Los sustituyentes oxo no están presentes en los restos aromáticos. Cuando se dice que un sistema de anillo (por ejemplo, carbocíclico o heterocíclico) está sustituido por un grupo carbonilo o un doble enlace, se pretende que el grupo carbonilo o doble enlace forme parte (es decir, esté dentro) del anillo. Los dobles enlaces de anillo, como se usan en el presente documento, son dobles enlaces que se forman entre dos átomos adyacentes del anillo (por ejemplo, C=C, C=N o N=N). El término "sustituido" en referencia a alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, cicloheteroalquilo, alquileno, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, carbociclico y heterociclico, significa alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, cicloheteroalquilo, alquileno, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, carbociclico y heterociclico, respectivamente, en los que uno o más átomos de hidrógeno, que están unidos al carbono o al heteroátomo, se reemplazan cada uno independientemente con uno o más sustituyentes distintos de hidrógeno.

15 En los casos en donde hay átomos de nitrógeno (por ejemplo, aminas) en los compuestos de la presente invención, estos puede convertirse en N-óxidos mediante tratamiento con un agente oxidante (por ejemplo, mCPBA y/o peróxidos de hidrógeno) para proporcionar otros compuestos de la presente invención. Por lo tanto, se considera que los átomos de nitrógeno mostrados y reivindicados incluyen tanto el nitrógeno mostrado como su derivado de N-óxido (N→O).

20 Cuando cualquier variable aparece más de una vez en cualquier constituyente o fórmula para un compuesto, su definición cada vez que aparece es independiente de su definición en cualquier otra aparición. Por lo tanto, por ejemplo, si se muestra que un grupo está sustituido con 0, 1, 2 o 3 grupos R, entonces dicho grupo está sin sustituir cuando está sustituido con 0 grupos R o está sustituido con hasta tres grupos R y cada vez que aparece R se selecciona independientemente de la definición de R.

Además, las combinaciones de sustituyentes y/o variables sólo se permiten si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables.

Como se usa en el presente documento, el término "tautómero" se refiere a cada uno de dos o más isómeros de un compuesto que existen en equilibrio, y que son fácilmente intercambiables mediante la migración de un átomo o grupo dentro de la molécula. Por ejemplo, un experto en la materia entenderá con facilidad que un 1,2,3-triazol existe en dos formas tautoméricas como se ha definido anteriormente:



35 Por lo tanto, la presente divulgación pretende cubrir todos los tautómeros posibles, incluso cuando una estructura representa solamente uno de ellos.

40 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/u formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y/u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

45 Los compuestos de la presente invención pueden estar presentes en forma de sales, que también se encuentran dentro del alcance de la presente invención. Se prefieren las sales farmacéuticamente aceptables. Como se usa en el presente documento, las "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a derivados de los compuestos divulgados en donde el compuesto parental se modifica fabricando sales ácidas o básicas del mismo. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto precursor que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. En general, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad 50 estequiométrica de la base o el ácido adecuado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general, medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Pueden encontrarse listas de las sales adecuadas en *"Remington's Pharmaceutical Sciences"*, 18.^a edición, Mack Publishing Company, Easton, PA (1990).

55 Si los compuestos de la presente invención tienen, por ejemplo, al menos un centro básico, estos pueden formar sales de adición de ácido. Estas se forman, por ejemplo, con ácidos inorgánicos fuertes, tales como ácidos minerales, por ejemplo, ácido sulfúrico, ácido fosfórico o un ácido halídrico, con ácidos carboxílicos orgánicos, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, ácido acético, que están sin sustituir o sustituidos, por ejemplo, con halógeno como ácido cloroacético, tales como ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo, ácido oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tereftálico, tales como ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo, ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico, tales como aminoácidos, (por ejemplo, ácido aspártico o glutámico o lisina o arginina) o ácido benzoico o con ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos alquil o arilsulfónicos (C_1-C_4) que están sin sustituir o sustituidos, por ejemplo, con halógeno, por ejemplo,

ácido metil o p-toluenosulfónico. También pueden formarse sales de adición de ácido correspondientes que tienen, si se desea, un centro básico presente adicionalmente. Los compuestos de la presente invención que tienen al menos un grupo ácido (por ejemplo, COOH) también pueden formar sales con bases. Son sales con bases adecuadas, por ejemplo, sales metálicas, tales como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, por ejemplo, sales de sodio, potasio o magnesio, o sales con amonio o una amina orgánica, tal como morfolina, tiomorfolina, piperidina, pirrolidina, una mono, di o tri-alquilamina inferior, por ejemplo, etil, *terc*-butil, dietil, diisopropil, trietil, tributil o dimetil-propilamina, o una mono, di o trihidroxi-alquilamina inferior, por ejemplo, mono, di o trietanolamina. Pueden formarse además las sales internas correspondientes. También se incluyen sales que no son adecuadas para usos farmacéuticos pero que pueden emplearse, por ejemplo, para el aislamiento o la purificación de compuestos libres de Fórmula (II) o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Las sales preferidas de los compuestos de Fórmula (II) que contienen un grupo básico incluyen monoclorhidrato, hidrogenosulfato, metanosulfonato, fosfato, nitrato o acetato.

15 Las sales preferidas de los compuestos de Fórmula (II) que contienen un grupo ácido incluyen sales de sodio, potasio y magnesio y aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables.

La presente invención pretende incluir todos los isótopos de los átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio. El deuterio tiene un protón y un neutrón en su núcleo y tiene dos veces la masa del hidrógeno habitual. El deuterio puede representarse mediante símbolos tales como ²H o ³D. El término "deuterado" en el presente documento, en sí mismo o utilizado para modificar un compuesto o grupo, se refiere al reemplazo de uno o más átomos de hidrógeno, que está unido al carbono o carbonos, con un átomo de deuterio. Los isótopos de carbono incluyen ¹³C y ¹⁴C.

25 Los compuestos marcados isotópicamente de la invención generalmente pueden prepararse mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos en el presente documento, usando un reactivo marcado isotópicamente adecuado en lugar del reactivo no marcado que suele emplearse. Dichos compuestos tienen una diversidad de usos potenciales, por ejemplo, como patrones y reactivos para determinar la capacidad de un compuesto farmacéutico potencial para unirse a las proteínas o receptores diana o para obtener imágenes de compuestos de la presente invención unidos a receptores biológicos *in vivo* o *in vitro*.

30 "Compuesto estable" y "estructura estable" pretenden indicar un compuesto que es lo suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento hasta un grado de pureza útil a partir de una mezcla de reacción y su formulación en un agente terapéutico eficaz. Se prefiere que los compuestos de la presente invención no contengan un grupo N-halo, S(O)₂H o S(O)H.

35 El término "solvato" significa una asociación física de un compuesto de la presente invención con una o más moléculas de disolvente, ya sean orgánicas o inorgánicas. Esta asociación física incluye enlaces de hidrógeno. En determinados casos, el solvato será susceptible de aislamiento, por ejemplo, cuando una o más moléculas de disolvente se incorporan en la red cristalina del sólido cristalino. Las moléculas de disolvente en el solvato pueden estar presentes en una disposición regular y/o una disposición no ordenada. El solvato puede comprender una cantidad tanto estequiométrica como no estequiométrica de las moléculas de disolvente. "Solvato" abarca solvatos tanto en fase de solución como aislables. Los solvatos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, hidratos, etanolatos, metanolatos e isopropanolatos. Los métodos de solvatación se conocen generalmente en la técnica.

ABREVIATURAS

40 Las abreviaturas como se usan en el presente documento, se definen de la siguiente manera: "1 x" para una vez, "2 x" para dos veces, "3 x" para tres veces, "°C" para grados Celsius, "eq" para equivalente o equivalentes, "g" para gramo o gramos, "mg" para miligramo o miligramos, "l" para litro o litros, "ml" para mililitro o mililitros, "μl" para microlitro o microlitros, "N" para normal, "M" para molar, "mmol" para milimol o milímoles, "min" para minuto o minutos, "h" para hora u horas, "RBF" para matraz de fondo redondo, "atm" para atmósfera, "kPa (psi)" para kilopascal (libras por pulgada cuadrada), "conc." para concentrado, "RCM" para metátesis de cierre de anillo, "sat." para saturado, "SFC" para cromatografía de fluidos supercríticos "PM" para peso molecular, "pf" para punto de fusión, "ee" para exceso enantiomérico, "EM" o "Espec. de masas" para espectrometría de masas, "IEN" para espectroscopía de masas con ionización por electronebulización, "HR" para alta resolución, "HRMS" para espectrometría de masas de alta resolución, "LCMS" para cromatografía de líquidos-espectrometría de masas, "HPLC" para cromatografía de líquidos de alta presión, "RP HPLC" para HPLC de fase inversa, "TLC" o "tlc" para cromatografía de capa fina, "RMN" para espectroscopía de resonancia magnética nuclear, "nOe" para espectroscopía nuclear de efecto Overhauser, "¹H" para protón, "^δ" para delta, "s" para singulete, "d" para doblete, "t" para triplete, "c" para cuartete, "m" para multiplete, "a" para ancho, "Hz" para hercio y "a" "^β", "^γ", "R", "S", "E" y "Z" son denominaciones estereoquímicas familiares para un experto en la materia.

Me
Et

metilo
etilo

Pr	propilo
<i>i</i> -Pr	isopropilo
Bu	butilo
<i>i</i> -Bu	isobutilo
<i>t</i> -Bu	<i>terc</i> -butilo
Ph	fenilo
Bn	bencilo
Boc o BOC	<i>terc</i> -butiloxicarbonilo
BoczO	dicarbonato de di- <i>terc</i> -butilo
AcOH u HOAc	ácido acético
AlCl ₃	tricloruro de aluminio
AIBN	Azobis-isobutironitrilo
BBr ₃	tribromuro de boro
BCl ₃	tricloruro de boro
BEMP	2- <i>terc</i> -butilimino-2-dietilamino-1,3-dimetilperhidro-1,3,2-diazafosforina
reactivo BOP	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio
reactivo de Burgess	1-metoxi-N-trietilammoniosulfonil-metanimidato
CBz	carbobencilo
DCM o CH ₂ Cl ₂	diclorometano
CH ₃ CN o ACN	acetonitrilo
CDCl ₃	deutero-cloroformo
CHCl ₃	cloroformo
mCPBA o m-CPBA	ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
Cs ₂ CO ₃	carbonato de cesio
Cu(OAc) ₂	acetato de cobre (II)
Cy ₂ Nme	N-ciclohexil-N-metilciclohexanamina
DBU	1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno
DCE	1,2-dicloroetano
DEA	dietilamina
Dess-Martin	1,1,1-tris(acetiloxi)-1,1-dihidro-1,2-benziodoxol-3-(1H)-ona
DIC o DIPCDI	diisopropilcarbodiimida
DIEA, DIPEA o base de Hünig	diisopropiletilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DME	1,2-dimetoxietano
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
ADNc	ADN complementario
Dppp	(<i>R</i>)-(+)1,2-bis(difenilfosfino)propano
DuPhos	(+)-1,2-bis((2S,5S)-2,5-dietilfosfolano)benceno
EDC	N-(3-dimetilaminopropil)- <i>N</i> '-etilcarbodiimida
EDCI	clorhidrato de <i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N</i> '-etilcarbodiimida
EDTA	ácido etilendiaminatetraacético
(S,S)-EtDuPhosRh(I)	trifluorometanosulfonato de (+)-1,2-bis((2S,5S)-2,5-dietilfosfolano)benceno(1,5-ciclooctadien)rodio (I)
Et ₃ N o TEA	trietilamina
EtOAc	acetato de etilo
Et ₂ O	dietil éter
EtOH	etanol
GMF	filtro de microfibra de vidrio
Grubbs II	(1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-2-imidazolidiniliden)dicloro(fenilmetileno)(triciclohexilfosfina)rutenio
HCl	ácido clorhídrico
HAUT	hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)piperaxin-1-etanosulfónico
Hex	hexano
HOBt u HOBT	1-hidroxibenzotriazol
H ₂ O ₂	peróxido de hidrógeno
IBX	ácido 2-yodoxibenzoico
H ₂ SO ₄	ácido sulfúrico
reactivo de Jones	CrO ₃ en H ₂ SO ₄ acuoso, solución 2 M
K ₂ CO ₃	carbonato de potasio
K ₂ HPO ₄	fosfato de potasio dibásico (hidrogenofosfato de potasio)
KOAc	acetato de potasio
K ₃ PO ₄	fosfato de potasio tribásico
LAH	hidruro de litio y aluminio

GS	grupo saliente
LiOH	hidróxido de litio
MeOH	metanol
MgSO ₄	sulfato de magnesio
MsOH o MSA	ácido metilsulfónico/ácido metanosulfónico
NaCl	cloruro de sodio
NaH	hidruro de sodio
NaHCO ₃	bicarbonato de sodio
Na ₂ CO ₃	carbonato de sodio
NaOH	hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₃	sulfito de sodio
Na ₂ SO ₄	sulfato de sodio
NBS	N-bromosuccinimida
NCS	N-clorosuccinimida
NH ₃	amoniaco
NH ₄ Cl	cloruro de amonio
NH ₄ OH	hidróxido de amonio
NH ₄ ⁺ HCO ₃ ⁻	formiato de amonio
NMM	N-metilmorfolina
Otf	triflato o trifluorometanosulfonato
Pd ₂ (dba) ₃	tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0)
Pd(OAc) ₂	acetato de paladio (II)
Pd/C	paladio sobre carbono
Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno]dicloropaladio (II)
Ph ₃ PCl ₂	dicloruro de trifenilfosfina
GP	grupo protector
POCl ₃	oxicloruro de fósforo
PPTS	p-toluenosulfonato de piridinio
i-PrOH o IPA	isopropanol
PS	Poliestireno
TA o ta	temperatura ambiente
SEM-C1	cloruro de 2-(trimetilsilil)etoximetilo
SiO ₂	óxido de sílice
SnCl ₂	cloruro de estaño (II)
TBAF	fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
TBAI	yoduro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
THP	tetrahidropirano
TMSCHN ₂	trimetilsilildiazometano
TMSCH ₂ N ₃	trimetilsililmetil azida
T3P	ácido propano fosfónico anhídrido
TRIS	tris(hidroximetil)aminometano
p-TsOH	ácido p-toluenosulfónico

IV. BIOLOGÍA

- 5 Los lisofosfolípidos son mediadores lipídicos bioactivos derivados de membrana. Los lisofosfolípidos incluyen, pero sin limitación, ácido lisofosfatídico (1-acil-2-hidroxi-*sn*-glicero-3-fosfato; LPA), esfingosina 1-fosfato (S1P), lisofosfatidilcolina (LPC) y esfingosilosforilcolina (SPC). Los lisofosfolípidos afectan a funciones celulares fundamentales que incluyen la proliferación celular, la diferenciación, la supervivencia, la migración, la adhesión, la invasión y la morfogénesis celular. Estas funciones influyen en muchos procesos biológicos que incluyen la neurogénesis, la angiogénesis, la cicatrización de heridas, la inmunidad y la carcinogénesis.
- 10 10 El LPA actúa a través de conjuntos de receptores específicos acoplados a proteína G (GPCR) de forma autocrina y paracrina. El LPA que se une a sus GPCR afines (LPA₁, LPA₂, LPA₃, LPA₄, LPA₅, LPA₆) activa las vías de señalización intracelular para producir una diversidad de respuestas biológicas.
- 15 15 Los lisofosfolípidos, tales como LPA, son especies de lípidos cuantitativamente menores en comparación con sus homólogos de fosfolípidos principales (por ejemplo, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomielina). El LPA tiene una función como molécula efectora biológica y tiene una amplia gama de acciones fisiológicas tales como, por ejemplo, pero sin limitación, efectos sobre la presión arterial, activación plaquetaria y contracción del músculo liso, y una diversidad de efectos celulares, que incluyen el crecimiento celular, el redondeo celular, la retracción de neuritas
- 20 20 y la formación de fibras de estrés de actina y la migración celular. Los efectos del LPA están predominantemente mediados por el receptor.

La activación de los receptores de LPA (LPA₁, LPA₂, LPA₃, LPA₄, LPA₅, LPA₆) con LPA media una gama de cascadas de señalización posteriores. Estas incluyen, pero sin limitación, la activación de la proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK), la inhibición/activación de adenilil ciclase (AC), la activación de fosfolipasa C (PLC)/movilización de Ca²⁺, la liberación de ácido araquidónico, la activación de Akt/PKB y la activación de pequeñas GTPasas, Rho, ROCK, 5 Rac y Ras. Otras vías que se ven afectadas por la activación del receptor de LPA incluyen, pero sin limitación, adenosina monofosfato cíclico (AMPc), ciclo de división celular 42/proteína de unión a GTP (Cdc42), serina/treonina-proteína cinasa protooncogén Raf (c-RAF), tirosina-proteína cinasa protooncogén Src (c-src), cinasa regulada por señal extracelular (ERK), cinasa de adhesión focal (FAK), factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF), 10 glucógeno sintasa cinasa 3b (GSK3b), cinasa aminoterminal c-jun (JNK), MEK, cadena ligera de miosina II (MLC II), factor nuclear kB (NF-kB), activación del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K), proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa C (PKC), sustrato 1 de toxina botulínica C3 relacionada con ras (RAC1). La vía real y el punto final realizado dependen de una gama de variables que incluyen el uso del receptor, el tipo celular, 15 el nivel de expresión de un receptor o proteína de señalización y la concentración de LPA. Casi todas las células, tejidos y órganos de mamíferos coexpresan varios subtipos de receptores LPA, lo que indica que los receptores de LPA señalizan de manera cooperativa. LPA₁, LPA₂ y LPA₃ comparten alta similitud de secuencia de aminoácidos.

El LPA se produce a partir de plaquetas activadas, adipocitos activados, células neuronales y otros tipos de células. El LPA sérico se produce por múltiples vías enzimáticas que implican la monoacilglicerol cinasa, fosfolipasa A₁, fosfolipasa secretora A₂ y lisofosfolipasa D (lysoPLD), incluyendo autotaxina. Varias enzimas están implicadas en la degradación de LPA: lisofosfolipasa, lípido fosfato fosfatasa y LPA acil transferasa tales como la endofilina. Las concentraciones de LPA en suero humano se estiman en 1-5 μM. El LPA sérico se une a la albúmina, a lipoproteínas de baja densidad u otras proteínas, que posiblemente protegen el LPA de la degradación rápida. Las especies moleculares de LPA con longitudes de cadena de acilo y saturación diferentes son de origen natural, incluyendo 1-palmitoílo (16:0), 1-palmitoleílo (16:1), 1-estearoílo (18:0), 1-oleoílo (18:1), 1-linoleoílo (18:2) y 1-araquidonilo (20:4) LPA. El LPA de alquilo cuantitativamente menor tiene actividades biológicas similares al LPA de acilo, y diferentes especies de LPA activan los subtipos de receptores de LPA con diversas eficacias.

RECEPTORES DE LPA

30 El LPA₁ (anteriormente llamado VZG-1/EDG-2/mrec1.3) se acopla con tres tipos de proteínas G, G_{i/o}, G_q y G_{12/13}. Mediante la activación de estas proteínas G, el LPA induce una gama de respuestas celulares a través de LPA₁ incluyendo, pero sin limitación: proliferación celular, activación del elemento de respuesta sérica (SRE), la activación de la proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK), inhibición de la adenilil ciclase (AC), activación de la fosfolipasa C (PLC), movilización de Ca²⁺, activación de Akt y activación de Rho.

35 En ratones adultos se observa una amplia expresión de LPA₁, con clara presencia en testículos, cerebro, corazón, pulmón, intestino delgado, estómago, bazo, timo y músculo esquelético. De forma similar, los tejidos humanos también expresan LPA₁; está presente en cerebro, corazón, pulmón, placenta, colon, intestino delgado, próstata, testículos, ovario, páncreas, bazo, riñón, músculo esquelético y timo.

40 El LPA₂ (EDG-4) también se acopla con tres tipos de proteínas G, G_{i/o}, G_q y G_{12/13}, para mediar la señalización celular inducida por LPA. La expresión de LPA₂ se observa en los testículos, riñón, pulmón, timo, bazo y estómago de ratones adultos y en los testículos humanos, páncreas, próstata, timo, bazo y leucocitos de sangre periférica. La expresión de LPA₂ está regulada positivamente en diversas estirpes celulares de cáncer y se han observado variantes 45 transcripcionales de LPA₂ humanas con mutaciones en la región 3' no traducida. La supresión dirigida de LPA₂ en ratones no ha mostrado ninguna anomalía fenotípica obvia, pero ha demostrado una pérdida significativa de señalización de LPA normal (por ejemplo, activación de PLC, movilización de Ca²⁺ y formación de fibras de estrés) en cultivos primarios de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF, por sus siglas en inglés). La creación de ratones doblemente nulos *lpa1*(-/-) *lpa2*(-/-) han revelado que muchas respuestas inducidas por LPA, que incluyen proliferación celular, inhibición de AC, activación de PLC, movilización de Ca²⁺, activación de JNK y Akt y formación de fibras de estrés, están ausentes o gravemente reducidos en MEF doblemente nulos. Todas estas respuestas, a excepción de la inhibición de AC (la inhibición de AC está casi anulada en MEF LPA₁(-/-)), solo están parcialmente afectados en cualquiera de los MEF LPA₁(-/-) o LPA₂(-/-). El LPA₂ contribuye a las respuestas de señalización mediadas por LPA normales en al menos algunos tipos de células (Choi *et al.*, *Biochimica et Biophysica Acta* 2008, 1781, págs. 531-539).

55 El LPA₃ (EDG-7) es distinto del LPA₁ y el LPA₂ en su capacidad de emparejarse con G_{i/o} y G_q pero no G_{12/13} y es mucho menos sensible a las especies de LPA con cadenas de acilo saturadas. El LPA₃ puede mediar la señalización pleiotrópica inducida por LPA que incluye la activación del PLC, movilización de Ca²⁺, inhibición/activación de AC y activación de MAPK. La sobreexpresión de LPA₃ en células de neuroblastoma conduce a alargamiento de neuritas, mientras que la de LPA₁ o LPA₂ da como resultado la retracción de neuritas y el redondeo celular cuando se estimula con LPA. La expresión de LPA₃ se observa en testículos de ratones adultos, riñón, pulmón, intestino delgado, corazón, timo y cerebro. En seres humanos, se encuentra en el corazón, páncreas, próstata, testículos, pulmón, ovario y cerebro (corteza frontal, hipocampo y amígdala).

60 65 El LPA₄ (p2y₉/GPR23) es de secuencia divergente en comparación con LPA₁, LPA₂ y LPA₃ con similitud más cercana

con el receptor del factor activador de plaquetas (PAF). El LPA₄ media la movilización de Ca²⁺ inducida por LPA y la acumulación de AMPc y el acoplamiento funcional a la proteína G para la activación de AC, así como el acoplamiento a otras proteínas G. El gen de LPA₄ gen se expresa en el ovario, páncreas, timo, riñón y músculo esquelético.

- 5 El LPA₅ (GPR92) es un miembro de la purinoagrupación de GPCR y estructuralmente está más estrechamente relacionado con LPA₄. El LPA₅ se expresa en el corazón humano, placenta, bazo, cerebro, pulmón e intestino. El LPA₅ también muestra una expresión muy alta en el compartimento de linfocitos CD8+ del tracto gastrointestinal.
- 10 El LPA₆ (p2y5) es un miembro de la purinoagrupación de GPCR y estructuralmente está más estrechamente relacionado con LPA₄. El LPA₆ es un receptor de LPA acoplado a las vías de señalización de G12/13-Rho y se expresa en las vainas de la raíz interna de los folículos pilosos humanos.

Actividad biológica ilustrativa

15 Cicatrización de heridas

La cicatrización normal de heridas se produce mediante una secuencia de eventos altamente coordinada en la que factores solubles celulares y componentes de la matriz actúan en conjunto para reparar la lesión. La respuesta de cicatrización puede describirse como que se produce en cuatro grandes fases amplias superpuestas: hemostasia, la inflamación, proliferación y remodelación. Muchos factores de crecimiento y citocinas se liberan en el sitio de una herida para iniciar y perpetuar los procesos de cicatrización de heridas.

25 Cuando se lesionan, los vasos sanguíneos dañados activan las plaquetas. Las plaquetas activadas desempeñan funciones fundamentales en los procesos de reparación posteriores al liberar mediadores bioactivos para inducir la proliferación celular, la migración celular, la coagulación de la sangre y la angiogénesis. El LPA es uno de esos mediadores que se libera de las plaquetas activadas; esto induce la agregación plaquetaria junto con efectos mitógenos/migratorios en las células circundantes, tales como las células endoteliales, células de músculo liso, fibroblastos y queratinocitos.

30 La aplicación tópica de LPA a heridas cutáneas en ratones promueve procesos de reparación (cierre de heridas y aumento del grosor neopitelial) al aumentar la proliferación/migración celular sin afectar a la inflamación secundaria.

35 La activación de fibroblastos dérmicos por factores de crecimiento y citocinas conduce a su posterior migración desde los bordes de la herida hacia la matriz provisional formada por el coágulo de fibrina, con lo que los fibroblastos proliferan y comienzan a restablecer la dermis secretando y organizando la característica matriz extracelular (MEC) dérmica. El creciente número de fibroblastos dentro de la herida y la precipitación continua de la MEC potencia la rigidez de la matriz mediante la aplicación de pequeñas fuerzas de tracción al tejido de granulación recién formado. El aumento de la tensión mecánica, junto con el factor de crecimiento transformante β (TGF β), induce la expresión de actina de músculo liso α (α -SMA) y la posterior transformación de fibroblastos en miofibroblastos. Los miofibroblastos 40 facilitan la remodelación del tejido de granulación mediante la contracción de miofibroblastos y a través de la producción de componentes de la MEC.

45 El LPA regula muchas funciones importantes de los fibroblastos en la cicatrización de heridas, incluyendo la proliferación, la migración, la diferenciación y la contracción. La proliferación de fibroblastos se requiere en la cicatrización de heridas para llenar una herida abierta. Por el contrario, la fibrosis se caracteriza por una intensa proliferación y acumulación de miofibroblastos que sintetizan activamente MEC y citocinas proinflamatorias. El LPA puede aumentar o suprimir la proliferación de tipos de células importantes en la cicatrización de heridas, tales como células epiteliales y endoteliales (EC, por sus siglas en inglés), macrófagos, queratinocitos y fibroblastos. Una función para el LPA₁ en la proliferación inducida por LPA se proporcionó por la observación de que se atenuó la proliferación de fibroblastos estimulada por LPA aislada de ratones nuligénicos para el receptor de LPA₁ (Mills *et al.*, Nat Rev. Cancer 2003; 3: 582-591). El LPA induce cambios en el citoesqueleto que son integrales a la adhesión de fibroblastos, la migración, la diferenciación y la contracción.

Fibrosis

55 La lesión del tejido inicia una serie compleja de respuestas de cicatrización de heridas del hospedador; si tiene éxito, estas respuestas restablecen la estructura y función del tejido normal. Si no, estas respuestas pueden conducir a fibrosis tisular y pérdida de la función.

60 Para la mayoría de los órganos y tejidos, el desarrollo de fibrosis implica una multitud de eventos y factores. Las moléculas implicadas en el desarrollo de la fibrosis incluyen proteínas o péptidos (citocinas profibróticas, quimiocinas, metaloproteinasas, etc.) y fosfolípidos. Los fosfolípidos implicados en el desarrollo de la fibrosis incluyen el factor de activación plaquetaria (FAP), fosfatidil colina, fosfato de esfingosina-1 (S1P) y ácido lisofosfatídico (LPA).

65 Una serie de distrofias musculares se caracteriza por una debilidad progresiva y desgaste de la musculatura y por una fibrosis extensa. Se ha demostrado que el tratamiento con LPA de mioblastos cultivados indujo una expresión

significativa del factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF). El CTGF posteriormente induce colágeno, la expresión de fibronectina e integrina e induce la desdiferenciación de estos mioblastos. El tratamiento de una diversidad de tipos celulares con LPA induce una inducción reproducible y de alto nivel de CTGF (J.P. Pradere, *et al.*, *LPA₁ receptor activation promotes renal interstitial fibrosis*, *J. Am. Soc. Nephrol.* 18 (2007) 3110-3118; N. Wiedmaier, *et al.*, *Int J Med Microbiol.* 298(3-4):231-43, 2008). El CTGF es una citocina profibrótica, que señala después y en paralelo con TGFβ.

5 La expresión de CTGF por células epiteliales gingivales, que están implicadas en el desarrollo de la fibromatosis gingival, se descubrió que estaba exacerbada por el tratamiento con LPA (A. Kantarci, *et al.*, *J. Pathol.* 210 (2006) 59-66).

10 El LPA está asociado a la progresión de la fibrosis hepática. *In vitro*, el LPA induce la proliferación de células estrelladas y hepatocitos. Estas células activadas son el principal tipo de célula responsable de la acumulación de MEC en el hígado. Además, los niveles plasmáticos de LPA aumentan durante la fibrosis hepática inducida por CCl₄ en roedores 15 o la fibrosis hepática inducida por el virus de la hepatitis C en humanos (N. Watanabe, *et al.*, *Plasma lysophosphatidic acid level and serum autotaxin activity are increased in liver injury in rats in relation to its severity*, *Life Sci.* 81 (2007) 1009-1015; N. Watanabe, *et al.*, *J. Clin. Gastroenterol.* 41 (2007) 616-623).

20 Se ha publicado un aumento de las concentraciones de fosfolípidos en el líquido de lavado broncoalveolar en conejos y roedores inyectados con bleomicina (K. Kuroda, *et al.*, *Phospholipid concentration in lung lavage fluid as biomarker for pulmonary fibrosis*, *Inhal. Toxicol.* 18 (2006) 389-393; K. Yasuda, *et al.*, *Lung* 172 (1994) 91-102).

25 El LPA se asocia a enfermedades del corazón y remodelación micocárdica. Los niveles séricos de LPA aumentan después del infarto de miocardio en pacientes y el LPA estimula la proliferación de fibroblastos cardíacos en ratas y la producción de colágeno (Chen *et al.* *FEES Lett.* 21 de agosto de 2006; 580(19):4737-45).

Fibrosis pulmonar

30 En el pulmón, las respuestas aberrantes de cicatrización de heridas a las lesiones contribuyen a la patogenia de las enfermedades pulmonares fibróticas. Las enfermedades pulmonares fibróticas, tales como la fibrosis pulmonar idiopática (FPI), se asocian a alta morbilidad y mortalidad.

35 El LPA es un mediador importante del reclutamiento de fibroblastos en la fibrosis pulmonar. El LPA y LPA₁ desempeñan funciones patogénicas clave en la fibrosis pulmonar. La actividad quimioatractante de fibroblastos desempeña una función importante en los pulmones en pacientes con fibrosis pulmonar. Los efectos profibróticos de la estimulación del receptor de LPA₁ se explica por la fuga vascular mediada por el receptor de LPA₁ y el aumento del reclutamiento de fibroblastos, ambos eventos profibróticos. La vía LPA-LPA₁ tiene una función en la mediación de la migración de fibroblastos y la fuga vascular en la FPI. El resultado final es el proceso de cicatrización aberrante que caracteriza a esta afección fibrótica.

40 40 El receptor de LPA₁ es el receptor de LPA más altamente expresado en fibroblastos obtenidos de pacientes con IPF. Además, el BAL obtenido de pacientes con FPI indujo quimiotaxis de fibroblastos de pulmón fetal humano que fue bloqueada por el antagonista dual del receptor LPA₁-LPA₃ Ki16425. En un modelo experimental de ratón con lesión pulmonar inducida por bleomicina, se demostró que los niveles de LPA eran altos en las muestras de lavado broncoalveolar en comparación con los controles no expuestos. Los ratones con inactivación de LPA₁ están protegidos de la fibrosis después de la exposición a bleomicina con acumulación reducida de fibroblastos y fuga vascular. En sujetos humanos con FPI, se observaron altos niveles de LPA en muestras de lavado broncoalveolar en comparación con controles sanos. El aumento de la actividad quimiotáctica de fibroblastos en estas muestras fue inhibido por el Ki16425, lo que indica que la migración de fibroblastos está mediada por la vía del receptor o receptores LPA-LPA (Tager *et al.* *Nature Medicine*, 2008, 14, 45-54).

50 La vía LPA-LPA₁ es crucial en el reclutamiento de fibroblastos y la fuga vascular en la fibrosis pulmonar.

55 55 La activación del TGF-β latente por la integrina αvβ6 desempeña una función crítica en el desarrollo de la lesión pulmonar y la fibrosis (Munger *et al.* *Cell*, vol. 96, 319-328, 1999). El LPA induce la activación de TGF-β mediada por αvβ6 en células epiteliales de pulmón humano (Xu *et al.* *Am. J. Pathology*, 2009, 174, 1264-1279). La activación de TGF-β mediada por αvβ6 inducida por LPA está mediada por el receptor LPA₂. La expresión del receptor LPA₂ aumenta en las células epiteliales y las células mesenquimáticas en áreas de fibrosis pulmonar de pacientes con FPI en comparación con el tejido pulmonar humano normal. La vía LPA-LPA₂ contribuye a la activación de la vía TGF-β en la fibrosis pulmonar. Los compuestos que inhiben el LPA₂ pueden mostrar eficacia en el tratamiento de la fibrosis pulmonar. Los compuestos que inhiben tanto LPA₁ como LPA₂ pueden mostrar una eficacia mejorada en el tratamiento de la fibrosis pulmonar en comparación con los compuestos que inhiben sólo LPA₁ o LPA₂.

60 65 Se demostró que el antagonista de LPA₁ BMS-986020 reduce significativamente la tasa de disminución de la FVC (capacidad vital forzada, por sus siglas en inglés) en un ensayo clínico de 26 semanas en pacientes con IPF (Palmer *et al.*, *Chest*, 2018, 154, 1061-1069).

Fibrosis renal

5 LPA y LPA₁ están implicados en la etiología de la fibrosis renal. El LPA tiene efectos sobre la proliferación y contracción de las células mesangiales glomerulares y, por lo tanto, se ha implicado en la glomerulonefritis proliferativa (C.N. Inoue, *et al.*, *Clin. Sci. (Colch.)* 1999, 96, 431-436). En un modelo animal de fibrosis renal [obstrucción ureteral unilateral (UUO, por sus siglas en inglés)], se descubrió que los receptores de LPA renales se expresan en condiciones basales con un orden de expresión de LPA₂>LPA₃=LPA₁>>LPA₄. Este modelo imita de manera acelerada el desarrollo de fibrosis renal incluyendo la inflamación renal, la activación de fibroblastos y la acumulación de matriz extracelular en el tubulointersticio. La UUO indujo significativamente la expresión del receptor de LPA₁. Esto fue paralelo a la producción renal de LPA (aumento de 3,3 veces) en medios condicionados a partir de explantes renales. Los riñones contralaterales no mostraron cambios significativos en la liberación de LPA y la expresión de los receptores de LPA. Esto muestra que se cumple un requisito previo para una acción de LPA en la fibrosis: producción de un ligando (LPA) e inducción de uno de sus receptores (el receptor de LPA₁) (J.P. Pradere *et al.*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2008, 1781, 582-587).

10 En ratones donde el receptor de LPA₁ se inactivó (LPA₁ (-/-)), el desarrollo de fibrosis renal se atenuó significativamente. Los ratones con UUO tratados con el antagonista del receptor de LPA Ki 16425 se parecían mucho al perfil de los ratones LPA₁ (-/-).

15 20 El LPA puede participar en la acumulación intraperitoneal de monocitos/macrófagos y el LPA puede inducir la expresión de la citocina profibrótica CTGF en cultivos primarios de fibroblastos humanos (J. S. Koh, *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1998, 102, 716-727).

25 30 El tratamiento con LPA de una estirpe celular renal epitelial de ratón, MCT, indujo un rápido aumento en la expresión de la citocina profibrótica CTGF. CTGF desempeña una función crucial en la fibrosis tubulointersticial (TIF, por sus siglas en inglés) inducida por UUO y está implicada en la actividad profibrótica de TGFβ. Esta inducción se suprimió prácticamente por completo mediante el tratamiento conjunto con el antagonista del receptor de LPA Ki 16425. La actividad profibrótica de LPA en el riñón puede ser resultado de una acción directa de LPA en las células renales que implican la inducción de CTGF.

Fibrosis hepática

35 El LPA está implicado en la enfermedad hepática y la fibrosis. Los niveles plasmáticos de LPA y autotaxina sérica (enzima responsable de la producción de LPA) están elevados en pacientes con hepatitis y modelos animales de lesión hepática en correlación con el aumento de la fibrosis. El LPA también regula la función de las células hepáticas. Los receptores LPA₁ y LPA₂ son expresados por células estrelladas hepáticas de ratón y el LPA estimula la migración de miofibroblastos hepáticos.

40 Fibrosis ocular

45 El LPA participa en la cicatrización de heridas en el ojo. Los receptores LPA₁ y LPA₃ son detectables en las células epiteliales corneales, queratocitos y células endoteliales normales de conejo y la expresión de LPA₁ y LPA₃ aumenta en las células epiteliales de la córnea después de una lesión.

50 45 El LPA y sus homólogos están presentes en el humor acuoso y en el líquido de la glándula lagrimal del ojo de conejo y estos niveles aumentan en un modelo de lesión corneal de conejo.

55 El LPA induce la formación de fibra de estrés de actina en células endoteliales y epiteliales corneales de conejo y promueve la contracción de fibroblastos corneales. El LPA también estimula la proliferación de células epiteliales pigmentadas de la retina humana

Fibrosis cardíaca

55 El LPA está implicado en el infarto de miocardio y la fibrosis cardíaca. Los niveles séricos de LPA aumentan en pacientes después de un infarto de miocardio (IM) y el LPA estimula la proliferación y la producción de colágeno (fibrosis) por los fibroblastos cardíacos de rata. Ambos receptores LPA₁ y LPA₃ se expresan altamente en el tejido cardíaco humano.

60 Tratamiento de la fibrosis

65 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse para tratar o prevenir la fibrosis en un mamífero. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse para tratar la fibrosis de un órgano o tejido en un mamífero. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para prevenir una afección de fibrosis en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero en riesgo de desarrollar una o más afecciones de

- fibrosos una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. El mamífero puede haber estado expuesto a una o más condiciones ambientales que aumentan el riesgo de fibrosis de un órgano o tejido. El mamífero puede haber estado expuesto a una o más condiciones ambientales que se sabe que aumentan el riesgo de fibrosis pulmonar, hepática o renal. El mamífero
- 5 puede tener una predisposición genética a desarrollar fibrosis de un órgano o tejido. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede administrarse a un mamífero para prevenir o minimizar la cicatrización después de una lesión. La lesión puede incluir cirugía.
- Las expresiones "fibrosis" o "trastorno fibrosante" como se usan en el presente documento, se refieren a afecciones
- 10 que se asocian a la acumulación anormal de células y/o fibronectina y/o colágeno y/o el aumento del reclutamiento de fibroblastos e incluyen, pero sin limitación, la fibrosis de órganos o tejidos individuales tales como el corazón, riñón, hígado, articulaciones, pulmón, tejido pleural, tejido peritoneal, piel, córnea, retina, tejido musculoesquelético y tracto digestivo.
- 15 Las enfermedades, trastornos o afecciones de ejemplo que implican fibrosis incluyen, pero sin limitación: Enfermedades pulmonares asociadas a fibrosis, por ejemplo, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis pulmonar secundaria a enfermedad inflamatoria sistémica tal como artritis reumatoide, esclerodermia, lupus, alveolitis fibrosante criptogénica, fibrosis inducida por radiación, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), esclerodermia, asma crónica, silicosis, fibrosis pulmonar o pleural inducida por amianto, lesión pulmonar aguda y dificultad respiratoria
- 20 aguda (incluyendo neumonía inducida por bacterias, inducida por trauma, inducida por neumonía vírica, inducida por ventilador, inducida por septicemia no pulmonar e inducida por aspiración); Nefropatías crónicas asociadas a lesiones/fibrosis (fibrosis renal), por ejemplo, glomerulonefritis secundaria a enfermedades inflamatorias sistémicas tales como lupus y esclerodermia, diabetes, nefritis glomerular, esclerosis glomerular segmentaria focal, nefropatía por IgA, hipertensión, aloinjerto y Alport; Fibrosis intestinal, por ejemplo, esclerodermia y fibrosis intestinal inducida por radiación; Fibrosis hepática, por ejemplo, cirrosis, fibrosis hepática inducida por alcohol, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), lesión del conducto biliar, cirrosis biliar primaria, infección o fibrosis hepática inducida por virus (por ejemplo, infección crónica por VHC) y hepatitis autoinmunitaria; Fibrosis de cabeza y cuello, por ejemplo, inducida por radiación; Cicatrización corneal, por ejemplo, LASIK (queratomileusis *in situ* asistida por láser), trasplante de córnea y trabeculectomía; Cicatrices hipertróficas y queloides, por ejemplo, quemaduras inducidas o quirúrgicas; y
- 25 30 otras enfermedades fibróticas, por ejemplo, sarcoidosis, esclerodermia, lesión de la médula espinal/fibrosis, mielofibrosis, reestenosis vascular, ateroesclerosis, arteriosclerosis, granulomatosis de Wegener, enfermedad mixta del tejido conectivo y enfermedad de Peyronie.
- 35 Un mamífero que padezca una de las siguientes enfermedades, trastornos o afecciones de ejemplo no limitantes puede beneficiarse de la terapia con un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo: ateroesclerosis, trombosis, cardiopatía, vasculitis, formación de tejido cicatricial, reestenosis, flebitis, EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar, inflamación pulmonar, adherencias intestinales, fibrosis de vejiga y cistitis, fibrosis de las fosas nasales, sinusitis, inflamación mediada por neutrófilos y fibrosis mediada por fibroblastos.
- 40 45 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede administrarse a un mamífero con fibrosis de un órgano o tejido o con una predisposición a desarrollar fibrosis de un órgano o tejido con uno o más agentes que se usan para tratar la fibrosis. El uno o más agentes pueden incluir corticoesteroides. El uno o más agentes diferentes pueden incluir inmunosupresores. El uno o más agentes diferentes pueden incluir antagonistas de linfocitos B. El uno o más agentes pueden incluir uteroglobina.
- 50 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse para tratar trastornos dermatológicos en un mamífero. La expresión "trastorno dermatológico", como se usa en el presente documento se refiere a un trastorno de la piel. Dichos trastornos dermatológicos incluyen, pero sin limitación, trastornos proliferativos o inflamatorios de la piel tales como, dermatitis atópica, trastornos ampulosos, collagenosis, psoriasis, esclerodermia, lesiones psoriásicas, dermatitis, dermatitis de contacto, eczema, urticaria, rosácea, la cicatrización de heridas, formación de cicatrices, cicatrices hipertróficas, queloides, enfermedad de Kawasaki, rosácea, síndrome de Sjogren-Larsso, urticaria. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse para tratar la esclerosis sistémica.
- 55 **Dolor**
- Puesto que el LPA se libera después de una lesión tisular, el LPA₁ desempeña una función importante en el inicio del dolor neuropático. LPA₁, a diferencia de LPA₂ o LPA₃, se expresa tanto en el ganglio de la raíz dorsal (DRG, por sus siglas en inglés) como en las neuronas de la raíz dorsal. Usando el oligodesoxinucleótido antisentido (AS-ODN, por sus siglas en inglés) para ratones nuligénicos para LPA₁ y LPA₁, se descubrió que la alodinia mecánica inducida por LPA y la hiperalgesia están mediadas de una manera dependiente de LPA₁. El LPA₁ y la activación de Rho-ROCK posterior desempeñan una función en el inicio de la señalización del dolor neuropático. El tratamiento previo con la exoenzima C3 de *Clostridium botulinum* (BoTXC3, inhibidor de Rho) o Y-27632 (inhibidor de ROCK) anuló por completo la alodinia y la hiperalgesia en ratones con lesiones nerviosas. El LPA también indujo la desmielinización de la raíz dorsal, que se evitó mediante BoTXC3. La desmielinización de la raíz dorsal por lesión no se observó en ratones

nuligénicos para LPA₁ o ratones de tipo silvestre inyectados con AS-ODN. La señalización de LPA parece inducir importantes marcadores de dolor neuropácticos tales como la proteína cinasa Cy (PKCy) y una subunidad $\alpha 2\delta 1$ del canal de calcio dependiente de voltaje (Ca $\delta 2\delta 1$) de manera dependiente de LPA₁ y de Rho (M. Inoue, *et al.*, *Initiation of neuropathic pain requires lysophosphatidic acid receptor signaling*, *Nat. Med.* 10 (2004) 712-718).

- 5 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento del dolor en un mamífero. El dolor puede ser dolor agudo o dolor crónico. El dolor puede ser dolor neuropáctico.
- 10 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento de la fibromialgia. La fibromialgia prude provenir de la formación de tejido cicatricial fibroso en músculos contráctiles (voluntarios). La fibrosis se une al tejido e inhibe el flujo sanguíneo, dando como resultado dolor.

Cáncer

- 15 La señalización del receptor de lisofosfolípidos desempeña una función en la etiología del cáncer. El ácido lisofosfatídico (LPA) y sus receptores acoplados a proteína G (GPCR) LPA₁, LPA₂ y/o LPA₃ desempeñan una función en el desarrollo de varios tipos de cánceres. El inicio, la progresión y la metástasis del cáncer implican varios procesos simultáneos y secuenciales, incluyendo la proliferación y el crecimiento celulares, la supervivencia y la antiapoptosis, la migración de células, la penetración de células extrañas en capas y/u órganos celulares definidos, y la promoción de la angiogénesis. El control de cada uno de estos procesos mediante la señalización de LPA en condiciones fisiológicas y fisiopatológicas subraya la potencial utilidad terapéutica de la modulación de las vías de señalización de LPA para el tratamiento del cáncer, especialmente a nivel de los receptores de LPA o ATX/lysoPLD. La autotaxina (ATX) es una enzima prometastática aislada inicialmente del medio acondicionado de células de melanoma humano que estimula una gran cantidad de actividades biológicas, incluyendo la angiogénesis y la promoción del crecimiento celular, la migración, la supervivencia y la diferenciación a través de la producción de LPA (*Mol Cancer Ther* 2008;7(10):3352-62).
- 30 El LPA señala a través de sus propios GPCR conduciendo a la activación de múltiples vías efectoras posteriores. Dichas vías efectoras posteriores desempeñan una función en el cáncer. El LPA y sus GPCR están vinculados al cáncer a través de las principales vías de señalización oncogénicas.
- 35 El LPA contribuye a la tumorigénesis mediante el aumento de la motilidad y la invasividad de las células. El LPA se ha implicado en el inicio o la progresión del cáncer de ovario. El LPA está presente en concentraciones significativas (2-80 μ M) en el líquido ascítico de pacientes con cáncer de ovario. Las células de cáncer de ovario producen constitutivamente mayores cantidades de LPA en comparación con las células epiteliales normales de la superficie ovárica, el precursor del cáncer epitelial de ovario. También se detectan niveles elevados de LPA en plasma de pacientes con cánceres de ovario en estadio precoz en comparación con controles. Los receptores de LPA (LPA₂ y LPA₃) también se sobreexpresan en las células de cáncer de ovario en comparación con las células epiteliales de la superficie ovárica normal. El LPA estimula la expresión de Cox-2 a través de la activación transcripcional y la potenciación postranscripcional del ARNm de Cox-2 en células de cáncer de ovario. Las prostaglandinas producidas por Cox-2 se han implicado en varios cánceres humanos y la inhibición farmacológica de la actividad de Cox-2 reduce el desarrollo del cáncer de colon y disminuye el tamaño y el número de adenomas en pacientes con poliposis adenomatosa familiar. El LPA también se ha implicado en el inicio o la progresión del cáncer de próstata, cáncer de mama, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de intestino (cáncer colorrectal), cáncer de tiroides y otros tipos de cáncer (Gardell *et al.*, *Trends in Molecular Medicine*, vol. 12, n.º 2, págs. 65-75, 2006; Ishii *et al.*, *Annu. Rev. Biochem.*, 73, 321-354, 2004; Mills *et al.*, *Nat. Rev. Cancer*, 3, 582-591, 2003; Murph *et al.*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1781, 547-557, 2008).
- 40 50 Las respuestas celulares a LPA están mediadas a través de los receptores de ácido lisofosfatídico. Por ejemplo, los receptores de LPA median tanto la migración como la invasión por estirpes celulares de cáncer de páncreas: un antagonista de LPA₁ y LPA₃ (Ki16425) y ARNip específico de LPA₁ bloquearon eficazmente la migración *in vitro* en respuesta a LPA y líquido peritoneal (ascitis) de pacientes con cáncer de páncreas; además, Ki 16425 bloqueó la actividad de invasión inducida por LPA y ascitis de una estirpe celular de cáncer pancreático metastásico altamente peritoneal (Yamada *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 279, 6595-6605, 2004).
- 55 60 Las estirpes celulares de carcinoma colorrectal muestran una expresión significativa de ARNm de LPA₁ y responden al LPA mediante la migración celular y la producción de factores angiogénicos. La sobreexpresión de los receptores de LPA tiene una función en la patogenia del cáncer de tiroides. El LPA₃ se clonó originariamente a partir de células de cáncer de próstata, en concordancia con la capacidad de LPA para inducir la proliferación autocrina de células de cáncer de próstata.

- 65 El LPA tiene funciones estimulantes en la progresión del cáncer en muchos tipos de cáncer. El LPA se produce a partir de e induce la proliferación de estirpes celulares de cáncer de próstata. El LPA induce la proliferación de células DLD1 de carcinoma de colon humano, la migración, la adhesión y la secreción de factores angiogénicos a través de la señalización de LPA₁. En otras estirpes celulares de carcinoma de colon humano (HT29 y WiDR), el LPA potencia la

proliferación celular y la secreción de factores angiogénicos. En otras estirpes celulares de cáncer de colon, la activación de los receptores LPA₂ y LPA₃ da como resultado la proliferación de las células. La manipulación genética o farmacológica del metabolismo de LPA, el bloqueo específico de la señalización del receptor y/o la inhibición de las vías de transducción de señal posteriores, representan estrategias para terapias contra el cáncer.

- 5 Se ha informado que el LPA y otros fosfolípidos estimulan la expresión de interleucina-8 (IL-8) en estirpes celulares de cáncer de ovario. Las altas concentraciones de IL-8 en el cáncer de ovario pueden correlacionarse con una mala respuesta inicial a la quimioterapia y con un mal pronóstico, respectivamente. En modelos animales, la expresión de IL-8 y otros factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) se asocia a una 10 mayor tumorigenidad, formación de ascitis, angiogénesis e invasividad de las células del cáncer de ovario. IL-8 es un modulador importante de la progresión del cáncer, la resistencia a fármacos y el pronóstico en el cáncer de ovario. Un compuesto de Fórmula (II) puede inhibir o reducir la expresión de IL-8 en estirpes celulares de cáncer de ovario.
- 15 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento del cáncer. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento de enfermedades proliferativas malignas y benignas. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse para prevenir o reducir la proliferación de 20 células tumorales, la invasión y la metástasis de carcinomas, el mesotelioma pleural (Yamada, *Cancer Sci.*, 2008, 99(8), 1603-1610) o el mesotelioma peritoneal, el dolor por cáncer, las metástasis óseas (Boucharaba *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 2004, 114(12), 1714-1725; Boucharaba *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006, 103(25) 9643-9648). Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método de tratamiento del cáncer en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, y un segundo agente terapéutico, en donde el segundo agente terapéutico es un agente antineoplásico.
- 25 El término "cáncer", como se usa en el presente documento, se refiere a un crecimiento anómalo de células que tienden a proliferar de una manera descontrolada y, en algunos casos, a metastatizar (propagarse). Los tipos de cáncer incluyen, pero sin limitación, tumores sólidos (tales como aquellos de la vejiga, intestino, cerebro, mama, endometrio, 30 corazón, riñón, pulmón, tejido linfático (linfoma), ovario, páncreas u otro órgano endocrino (tiroides), próstata, piel (melanoma o cáncer de células basales) o tumores hemáticos (tales como las leucemias) en cualquier estadio de la enfermedad con o sin metástasis.
- 35 Los ejemplos adicionales no limitantes de cánceres incluyen, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma corticosuprarrenal, cáncer de ano, cáncer de apéndice, astrocitomas, tumor rabdoideo/teratoideo atípico, carcinoma basocelular, cáncer de las vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer óseo (por ejemplo, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno), glioma del tronco encefálico, tumores de cerebro, tumores de cerebro y de médula espinal, cáncer de mama, tumores bronquiales, linfoma de Burkitt, cáncer de cuello uterino, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, linfoma cutáneo de 40 linfocitos T, tumores embrionarios, cáncer de endometrio, ependimoblastoma, ependimoma, cáncer de esófago, familia de tumores del sarcoma de Ewing, cáncer ocular, retinoblastoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal (GIST, por sus siglas en inglés), tumor de células del estroma gastrointestinal, tumor de células germinales, glioma, tricoleucemia, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular (hígado), linfoma de Hodgkin, cáncer hipofaríngeo, melanoma intraocular, tumores de 45 células de los islotes (páncreas endocrino), sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, histiocitosis de células de Langerhans, cáncer de laringe, leucemia, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, tricoleucemia, cáncer de hígado, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, linfoma de Burkitt, linfoma cutáneo de linfocitos T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma, macroglobulinemia de Waldenström, meduloblastoma, medulopatelioma, melanoma, mesotelioma, cáncer de boca, 50 leucemia mielógena crónica, leucemia mieloide, mieloma múltiple, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer oral, cáncer orofaríngeo, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno de hueso, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, tumor de células germinales ováricas, tumor ovárico de potencial maligno bajo, cáncer de páncreas, papilomatosis, cáncer paratiroides, cáncer de pene, cáncer faríngeo, tumores del parénquima pineal de diferenciación intermedia, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor de la pituitaria, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, 55 linfoma primario del sistema nervioso central, cáncer de próstata, cáncer de recto, cáncer de células renales (riñón), retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de glándulas salivales, sarcoma, familia de tumores del sarcoma de Ewing, sarcoma de Kaposi, síndrome de Sézary, cáncer de piel, cáncer de pulmón microcítico, cáncer del intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de células escamosas, cáncer de estómago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, linfoma de linfocitos T, cáncer de testículo, cáncer de garganta, timoma 60 y carcinoma tímico, cáncer de tiroides, cáncer de uretra, cáncer de útero, sarcoma uterino, cáncer de vagina, cáncer de vulva, macroglobulinemia de Waldenström, tumor de Wilms.
- 65 El aumento de las concentraciones de LPA y vesículas en la ascitis de pacientes con cáncer de ovario y derrames de cáncer de mama indican que podría ser un marcador de diagnóstico precoz, un indicador pronóstico o un indicador de respuesta a la terapia (Mills *et al.*, *Nat. Rev. Cancer.*, 3, 582-591, 2003; Sutphen *et al.*, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13, 1185-1191, 2004). Las concentraciones de LPA son uniformemente más altas en muestras de ascitis que en

muestras de plasma coincidentes.

Trastornos respiratorios y alérgicos

- 5 El LPA puede ser un contribuyente a la patogenia de las enfermedades respiratorias. La enfermedad respiratoria puede ser asma. Los efectos proinflamatorios del LPA incluyen la desgranulación de mastocitos, la contracción de las células del músculo liso y la liberación de citocinas de las células dendríticas. Las células del músculo liso de las vías respiratorias, las células epiteliales y los fibroblastos de pulmón muestran respuestas a LPA. El LPA induce la secreción de IL-8 de las células epiteliales bronquiales humanas. La IL-8 se encuentra en concentraciones aumentadas en fluidos BAL de pacientes con asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, sarcoidosis pulmonar y síndrome de dificultad respiratoria aguda y se ha demostrado que la IL-8 exacerba la inflamación de las vías aéreas y la remodelación de las vías aéreas de los asmáticos. Se ha demostrado que los receptores LPA₁, LPA₂ y LPA₃ contribuyen todos a la producción de IL-8 inducida por LPA. Los estudios que clonaron múltiples GPCR activados por LPA permitieron demostrar la presencia de ARNm para el LPA₁, LPA₂ y LPA₃ en el pulmón (J.J.A. Contos, *et al.*, *Mol. Pharmacol.* 58, 1188-1196, 2000).

10 La liberación de LPA de las plaquetas activadas en un sitio de lesión y su capacidad para promover la proliferación y contracción de fibroblastos son características del LPA como mediador de la reparación de heridas. En el contexto de la enfermedad de las vías respiratorias, el asma es una enfermedad inflamatoria en donde los procesos inadecuados de "reparación" de la vía aérea conducen a una "remodelación" estructural de la vía aérea. En el asma, las células de las vías respiratorias están sujetas a lesiones continuas debido a una diversidad de ataques, incluyendo alérgenos, contaminantes, otros agentes ambientales inhalados, bacterias y virus, que conducen a la inflamación crónica que caracteriza al asma.

- 15 25 En el individuo asmático, la liberación de mediadores de reparación normales, incluyendo LPA, puede ser exagerada o las acciones de los mediadores de reparación pueden prolongarse de manera inadecuada conduciendo a una remodelación inadecuada de las vías respiratorias. Las principales características estructurales de la vía aérea remodelada observada en el asma incluyen una lámina reticular engrosada (la estructura similar a una membrana basal justo debajo de las células epiteliales de la vía aérea), mayor número y activación de miofibroblastos, 30 engrosamiento de la capa muscular lisa, aumento del número de glándulas mucosas y secreciones mucosas y alteraciones en el tejido conectivo y el lecho capilar a lo largo de la pared de las vías respiratorias. El LPA puede contribuir a estos cambios estructurales en las vías respiratorias. El LPA puede estar implicado en la hiperreactividad aguda de las vías respiratorias en el asma. La luz de la vía aérea asmática remodelada es más estrecha debido al engrosamiento de la pared de la vía aérea, disminuyendo de esta manera el flujo de aire. El LPA puede contribuir a la 35 remodelación estructural a largo plazo y la hiperreactividad aguda de la vía respiratoria asmática. El LPA puede contribuir a la hiperreactividad que es una característica principal de las exacerbaciones agudas del asma.

40 Además de las respuestas celulares mediadas por LPA, varios de los componentes de la vía de señalización de LPA que conducen a estas respuestas son relevantes para el asma. La regulación positiva del receptor de EGF está inducida por LPA y también se observa en las vías respiratorias asmáticas (M. Amishima, *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 157, 1907-1912, 1998). La inflamación crónica contribuye al asma y se sabe que varios de los factores de transcripción activados por LPA están implicados en la inflamación (Ediger *et al.*, *Eur Respir J* 21:759-769, 2003).

- 45 50 La proliferación y contracción de los fibroblastos y la secreción de la matriz extracelular estimuladas por el LPA pueden contribuir a las características fibroproliferativas de otras enfermedades de las vías respiratorias, tales como la fibrosis peribronquiolar presente en la bronquitis crónica, enfisema y enfermedad pulmonar intersticial. El enfisema también se asocia a una fibrosis leve de la pared alveolar, una característica que se cree que representa un intento de reparar el daño alveolar. El LPA puede desempeñar una función en las enfermedades pulmonares intersticiales fibroticas y la bronquiolitis obliterante, donde se incrementan tanto el colágeno como los miofibroblastos. El LPA puede estar implicado en varios de los diversos síndromes que constituyen la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

55 60 65 La administración de LPA *in vivo* induce hiperreactividad de las vías respiratorias, respuestas de picor-rascado, infiltración y activación de eosinófilos y neutrófilos, remodelación vascular y respuestas flexoras nociceptivas. El LPA también induce la liberación de histamina de mastocitos de ratón y rata. En una reacción alérgica aguda, la histamina induce diversas respuestas, tales como contracción del músculo liso, exudación de plasma y producción de moco. La exudación de plasma es importante en la vía aérea, porque la fuga y el posterior edema de la pared de la vía aérea contribuyen al desarrollo de la hiperreactividad de la vía aérea. La exudación plasmática progresiva a hinchazón conjuntival en el trastorno alérgico ocular y bloqueo nasal en la rinitis alérgica (Hashimoto *et al.*, *J Pharmacol Sci* 100, 82-87, 2006). La exudación plasmática inducida por LPA puede estar mediada por la liberación de histamina de los mastocitos a través de uno o más receptores de LPA. El receptor o receptores de LPA pueden incluir LPA₁ y/o LPA₃. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento de diversos trastornos alérgicos en un mamífero. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones respiratorias en un mamífero. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento del asma en un mamífero. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento del asma crónica en un mamífero.

5 La expresión "enfermedad respiratoria", como se usa en el presente documento, se refiere a enfermedades que afectan a los órganos implicados en la respiración, tales como la nariz, garganta, laringe, trompas de Eustaquio, tráquea, bronquios, pulmones, músculos relacionados (por ejemplo, diafragma e intercostales) y nervios. Las enfermedades respiratorias incluyen, pero sin limitación, asma, síndrome de dificultad respiratoria en el adulto y asma alérgico (extrínseco), asma no alérgico (intrínseco), asma grave agudo, asma crónica, asma clínico, asma nocturno, asma inducido por alérgenos, asma sensible a aspirina, asma inducida por el ejercicio, hiperventilación isocápnica, asma de aparición en la niñez, asma de aparición en el adulto, asma variante por tos, asma laboral, asma resistente a esteroides, asma estacional, rinitis alérgica estacional, rinitis alérgica perenne, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, incluyendo bronquitis crónica o enfisema, hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar intersticial y/o inflamación de las vías respiratorias y fibrosis quística, e hipoxia.

10

15 El término "asma", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier trastorno de los pulmones caracterizado por variaciones en el flujo de gas pulmonar asociado a la constricción de la vía aérea por cualquier causa (intrínseca, extrínseca, o ambas; alérgica o no alérgica). El término asma puede usarse con uno o más adjetivos para indicar la causa.

20 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en un método para el tratamiento o la prevención de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un mamífero, que comprende administrar al mamífero al menos una vez una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. Además, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluye, pero sin limitación, bronquitis crónica o enfisema, hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar intersticial y/o inflamación de las vías respiratorias y fibrosis quística.

25 Sistema nervioso

30 El sistema nervioso es un lugar importante para la expresión de LPA₁; allí está regulado espacial y temporalmente a lo largo del desarrollo del cerebro. Los oligodendrocitos, las células mielinizantes en el sistema nervioso central (SNC), expresan LPA₁ en mamíferos. Además, las células de Schwann, las células mielinizantes del sistema nervioso periférico, también expresan LPA₁, que está implicado en la regulación de la supervivencia y la morfología de las células de Schwann. Estas observaciones identifican funciones importantes para la señalización de LPA mediada por receptores en la neurogénesis, la supervivencia celular y la mielinización.

35 La exposición de las estirpes celulares del sistema nervioso periférico a LPA produce una retracción rápida de sus procesos que resulta en el redondeo celular, que estaba, en parte, mediado por la polimerización del citoesqueleto de actina. El LPA puede provocar degeneración neuronal en condiciones patológicas cuando la barrera hematoencefálica está dañada y los componentes del suero se filtran al cerebro (Moolenaar, *Curr. Opin. Cell Biol.* 7:203-10, 1995). Las estirpes celulares de neuroblastos del SNC inmortalizadas de la corteza cerebral también muestran respuestas de retracción a la exposición a LPA a través de la activación de Rho y las interacciones de actomiosina. El LPA puede 40 asociarse a daño neuronal postisquémico (*J. Neurochem.* 61, 340, 1993; *J. Neurochem.*, 70: 66, 1998).

45 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento o la prevención de un trastorno del sistema nervioso en un mamífero. La expresión "trastorno del sistema nervioso", como se usa en el presente documento, se refiere a afecciones que alteran la estructura o función del cerebro, la médula espinal o el sistema nervioso periférico, incluyendo, pero sin limitación, la enfermedad de Alzheimer, edema cerebral, isquemia cerebral, ictus, esclerosis múltiple, neuropatías, enfermedad de Parkinson, aquellas encontradas después de traumatismo directo o quirúrgico (incluyendo disfunción cognitiva post-quirúrgica y lesión de la médula espinal o del tronco cerebral), así como los aspectos neurológicos de trastornos tales como enfermedad degenerativa de los discos y ciática.

50 55 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en el tratamiento o la prevención de un trastorno del SNC en un mamífero. Los trastornos del SNC incluyen, pero sin limitación, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, ictus, isquemia cerebral, isquemia retiniana, disfunción cognitiva postquirúrgica, migraña, neuropatía periférica/dolor neuropático, lesión de la médula espinal, edema cerebral y traumatismo craneal.

Trastornos cardiovasculares

60 Los fenotipos cardiovasculares observados después de la supresión dirigida de los receptores de lisofosfolípidos revelan funciones importantes para la señalización de lisofosfolípidos en el desarrollo y la maduración de vasos sanguíneos, la formación de placas ateroescleróticas y el mantenimiento de la frecuencia cardíaca (Ishii, I. et al. *Annu. Rev. Biochem.* 73, 321-354, 2004). La angiogénesis, la formación de nuevas redes capilares a partir de vasculatura preexistente, normalmente se invoca en la cicatrización de heridas, el crecimiento de tejido y la angiogénesis miocárdica después de una lesión isquémica. Los factores de crecimiento peptídico (por ejemplo, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)) y los lisofosfolípidos controlan la proliferación, la migración, la adhesión, la diferenciación y el ensamblaje coordinados de células endoteliales vasculares (VEC, por sus siglas en inglés) y células vasculares

musculares lisas (VSMC, por sus siglas en inglés) circundantes. La desregulación de los procesos que median la angiogénesis puede conducir a ateroesclerosis, hipertensión, crecimiento tumoral, artritis reumatoide y retinopatía diabética (Osborne, N. y Stainier, D.Y. *Annu. Rev. Physiol.* 65, 23-43, 2003).

- 5 Las vías de señalización posteriores evocadas por los receptores de lisofosfolípidos incluyen la formación de lamelipidos dependiente de Rac (por ejemplo, LPA₁) y la formación de fibras de estrés dependiente de Rho (por ejemplo, LPA₁), que es importante en la migración y la adhesión celulares. La disfunción del endotelio vascular puede desplazar el equilibrio de la vasodilatación a la vasoconstricción y provocar hipertensión y remodelación vascular, que son factores de riesgo para la ateroesclerosis (Maguire, J.J. et al., *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 448-454, 2005).
- 10 10 El LPA contribuye tanto a la fase temprana (disfunción de barrera y adhesión de monocitos del endotelio) como a la fase tardía (activación de plaquetas y formación de trombos intraarteriales) de la ateroesclerosis, además de su progresión global. En la fase temprana, el LPA de numerosas fuentes se acumula en las lesiones y activa sus GPCR afines (LPA₁ y LPA₃) expresados en plaquetas (Siess, W. *Biochim. Biophys. Acta* 1582, 204-215, 2002; Rother, E. et al. *Circulation* 108, 741-747, 2003). Esto desencadena el cambio de forma y la agregación de plaquetas, lo que conduce a la formación de trombos intraarteriales y, posiblemente, a infarto de miocardio e ictus. En apoyo de su actividad aterogénica, el LPA también puede ser un mitógeno y un motógeno para VSMC y un activador de células endoteliales y macrófagos. Los mamíferos con enfermedad cardiovascular pueden beneficiarse de los antagonistas de los receptores de LPA que previenen la formación de trombos y placas de neoíntima.
- 15 20 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse para tratar o prevenir enfermedades cardiovasculares en mamíferos.
- 25 25 La expresión "enfermedad cardiovascular", como se usa en el presente documento se refiere a enfermedades que afectan al corazón o los vasos sanguíneos o ambos, incluyendo, pero sin limitación: arritmia (auricular o ventricular o ambas); ateroesclerosis y sus secuelas; angina; alteraciones del ritmo cardíaco; isquemia miocárdica; infarto de miocardio; aneurisma cardíaco o vascular; vasculitis, ictus; arteriopatía obstructiva periférica de una extremidad, un órgano o un tejido; lesión por reperfusión después de isquemia del cerebro, corazón u otro órgano o tejido; choque endotóxico, quirúrgico o traumático; hipertensión, cardiopatía valvular, insuficiencia cardíaca, presión sanguínea anómala; choque; vasoconstricción (incluyendo la asociada a migrañas); anomalía vascular, inflamación, insuficiencia limitada a un único órgano o tejido.
- 30 35 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para prevenir o tratar la vasoconstricción, la ateroesclerosis y sus secuelas isquemia miocárdica, infarto de miocardio, aneurisma de la aorta, vasculitis e ictus, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, o composición farmacéutica o medicamento que incluye un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 40 40 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para reducir la lesión por reperfusión cardíaca después de una isquemia miocárdica y/o un choque endotóxico que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 45 45 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para reducir la constrección de vasos sanguíneos en un mamífero, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 50 50 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para prevenir un aumento de la presión sanguínea de un mamífero, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 55 55 **Inflamación**
- 60 65 Se ha demostrado que el LPA regula las respuestas inmunitarias mediante la modulación de las actividades/funciones de células inmunitarias tales como los linfocitos T-B y los macrófagos. En los linfocitos T activados, el LPA activa la producción de IL-2/proliferación celular a través de LPA₁ (Gardell et al., *TRENDS in Molecular Medicine*, Vol. 12, N.º 2, febrero de 2006). La expresión de genes de respuesta inflamatoria inducida por LPA está mediada por LPA₁ y LPA₃ (*Biochem Biophys Res Commun.* 363(4): 1001-8, 2007). Además, el LPA modula la quimiotaxis de las células inflamatorias (*Biochem Biophys Res Commun.*, 1993, 15; 193(2), 497). Se conocen la proliferación y la actividad secretora de citocinas en respuesta a LPA de las células inmunitarias (*J. Immunol.* 1999, 162, 2049), la actividad de agregación plaquetaria en respuesta a LPA, la aceleración de la actividad migratoria en monocitos, la activación de NF-κB en fibroblastos, la potenciación de la unión de fibronectina a la superficie celular y similares. Por lo tanto, el LPA se asocia a diversas enfermedades inflamatorias/inmunitarias.

- 5 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse para tratar o prevenir la inflamación en un mamífero. Los antagonistas de LPA₁ y/o LPA₃ pueden encontrar un uso en el tratamiento o la prevención de trastornos inflamatorios/inmunitarios en un mamífero. El antagonista de LPA₁ puede ser un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 10 Los ejemplos de trastornos inflamatorios/inmunitarios incluyen psoriasis, artritis reumatoide, vasculitis, enfermedad inflamatoria intestinal, dermatitis, artrosis, asma, enfermedad muscular inflamatoria, rinitis alérgica, vaginitis, cistitis intersticial, esclerodermia, eczema, trasplante alógeno o xenógeno (de órganos, médula ósea, células madre y otras células y tejidos), rechazo de injertos, enfermedad de injerto contra hospedador, lupus eritematoso, enfermedad inflamatoria, diabetes de tipo I, fibrosis pulmonar, dermatomiositis, síndrome de Sjögren, tiroiditis (por ejemplo, tiroiditis de Hashimoto y autoinmunitaria), miastenia grave, anemia hemolítica autoinmunitaria, esclerosis múltiple, fibrosis quística, hepatitis recurrente crónica, cirrosis biliar primaria, conjuntivitis alérgica y dermatitis atópica.
- 15 **Otras enfermedades, trastornos o afecciones**
- 20 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar, prevenir, revertir, detener o ralentizar la progresión de enfermedades o afecciones dependientes de LPA o mediadas por LPA una vez que sea clínicamente evidente, o tratar los síntomas asociados o relacionados con enfermedades o afecciones dependientes de LPA o mediadas por LPA, mediante la administración al mamífero de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. El sujeto ya puede tener una enfermedad o afección dependiente de LPA o mediada por LPA en el momento de la administración, o puede estar en riesgo de desarrollar una enfermedad o afección dependiente de LPA o mediada por LPA.
- 25 La actividad de LPA₁ en un mamífero puede modularse directa o indirectamente mediante la administración de (al menos una vez) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. Dicha modulación incluye, pero sin limitación, reducir y/o inhibir la actividad de LPA₁. La actividad de LPA en un mamífero puede modularse directa o indirectamente, incluyendo reducción y/o inhibición, mediante la administración (al menos una vez) de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. Dicha modulación incluye, pero sin limitación, reducir y/o inhibir la cantidad y/o actividad de un receptor de LPA. El receptor de LPA puede ser LPA₁.
- 30
- 35 El LPA puede tener una acción de contracción sobre las células del músculo liso de la vejiga aisladas de la vejiga y promueve el crecimiento de las células epiteliales derivadas de la próstata (*J. Urology*, 1999, 162, 1779-1784; *J. Urology*, 2000, 163, 1027-1032). En otro aspecto, el LPA contrae el tracto urinario y la próstata *in vitro* y aumenta la presión intrauretral *in vivo* (documento WO 02/062389).
- 40 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para prevenir o tratar el reclutamiento de células eosinófilas y/o basófilas y/o dendríticas y/o neutrófilos y/o monocitos y/o linfocitos T, que comprenden administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 45 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar la cistitis, incluyendo, por ejemplo, la cistitis intersticial, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 50 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para diagnosticar o determinar si un paciente padece o no una enfermedad o afección dependiente de LPA o mediada por LPA mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, y determinar si el paciente responde o no al tratamiento.
- 55 Los compuestos de Fórmula (II), sales farmacéuticamente aceptables y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, que pueden ser antagonistas de LPA₁, pueden usarse en un método para tratar pacientes que padecen una o más afecciones o enfermedades dependientes de LPA o mediadas por LPA, incluyendo, pero sin limitación, fibrosis pulmonar, fibrosis renal, fibrosis hepática, formación de cicatrices, asma, rinitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar intersticial, artritis, alergia, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, infarto de miocardio, aneurisma, ictus, cáncer, dolor, trastornos proliferativos y afecciones inflamatorias. las afecciones o enfermedades dependientes de LPA pueden incluir aquellas en donde hay presente y/o se observa un exceso absoluto o relativo de LPA.
- 60
- 65 Las enfermedades o afecciones dependientes de LPA o mediadas por LPA pueden incluir, pero sin limitación, fibrosis de órganos, asma, trastornos alérgicos, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar o pleural, fibrosis peritoneal, artritis, alergia, cáncer, enfermedad cardiovascular, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, infarto de miocardio, aneurisma, ictus y cáncer.

- Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en un método para mejorar la disminución de la sensibilidad corneal provocada por operaciones corneales tales como la queratomileusis *in situ* asistida por láser (LASIK, por sus siglas en inglés) o la operación de cataratas, la disminución de la sensibilidad corneal provocada por la degeneración corneal y los síntomas de ojo seco provocados por ello.
- 5 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar o prevenir la inflamación ocular y la conjuntivitis alérgica, la queratoconjuntivitis vernal y la conjuntivitis papilar en un mamífero, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 10 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para prevenir o tratar la enfermedad de Sjogren o la enfermedad inflamatoria con ojos secos en un mamífero, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 15 El LPA y los receptores de LPA (por ejemplo, LPA₁) pueden estar implicados en la patogenia de la osteoartritis (Kotani *et al.*, *Hum. Mol. Genet.*, 2008, 17, 1790-1797). En un aspecto, en el presente documento se presenta el uso de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, en el tratamiento o la prevención de la osteoartritis en un mamífero, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 20 Los receptores de LPA (por ejemplo, LPA₁, LPA₃) pueden contribuir a la patogenia de la artritis reumatoide (Zhao *et al.*, *Mol. Pharmacol.*, 2008, 73(2), 587-600). Un compuesto de Fórmula (IIIa), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar o prevenir la artritis reumatoide en un mamífero, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 25 Los receptores de LPA (por ejemplo, LPA₁) pueden contribuir a la adipogénesis. (Simon *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, n.º 15, pág. 14656). Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para promover la formación de tejido adiposo en un mamífero, que comprende administrar al menos una vez al mamífero una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 30 35 a. *Ensayos in vitro*
- La eficacia de los compuestos de la presente invención como inhibidores de LPA₁ puede determinarse en un ensayo de antagonista funcional de LPA₁ de la siguiente manera:
- 40 Se sembraron células de ovario de hámster chino que sobreexpresaban LPA₁ humano durante la noche (15.000 células/pocillo) en microplacas de 384 pocillos recubiertas con poli-D-lisina (Greiner bio-one, N.º de Cat. 781946) en medio DMEM/F12 (Gibco, N.º de Cat. 11039). Después del cultivo durante la noche, las células se cargaron con colorante indicador de calcio (AAT Bioquest Inc, N.º de Cat. 34601) durante 30 minutos a 37 °C. Las células se equilibraron a temperatura ambiente durante 30 minutos antes del ensayo. Los compuestos de ensayo solubilizados en DMSO se transfirieron a placas de superficie de no unión de 384 pocillos (Corning, N.º de Cat. 3575) usando el dispensador acústico Labcyte Echo y se diluyeron con tampón de ensayo [HBSS 1X con calcio/magnesio (N.º de Cat. de Gibco 14025-092), HEPES 20 mM (N.º de Cat. de Gibco 15630-080) y BSA libre de ácidos grasos al 0,1 % (N.º de Cat. de Sigma A9205)] a una concentración final de DMSO al 0,5 %. Se añadieron los compuestos diluidos a las células mediante FDSS6000 (Hamamatsu) a concentraciones finales que varían de 0,08 nM a 5 µM y después se incubaron durante 20 min a temperatura ambiente, momento en el que se añadió LPA (N.º de Cat. de Avanti Polar Lipids 857130C) a concentraciones finales de 10 nM para estimular las células. El valor de IC_{50} del compuesto se definió como la concentración del compuesto de ensayo que inhibía el 50 % del flujo de calcio inducido por LPA solo. Los valores de IC_{50} se determinaron ajustando los datos a una ecuación logística de 4 parámetros (GraphPad Prism, San Diego CA).
- 45 55 b. *Ensayos in vivo*
- Provocación con LPA con evaluación de histamina en plasma.
- 50 60 El compuesto se dosifica por vía oral p.o. 2 horas a ratones hembra CD-1 antes de la provocación con LPA. Después, los ratones se dosifican a través de la vena de la cola (IV) con 0,15 ml de LPA en BSA al 0,1 %/PBS (2 µg/µl). Exactamente 2 minutos después de la provocación con LPA, los ratones se sacrifican por decapitación y se recoge la sangre del tronco. Estas muestras se centrifugan colectivamente y las muestras individuales de 75 µl se congelan a -20 °C hasta el momento del ensayo de histamina.
- 65 65 El análisis de histamina en plasma se realizó mediante métodos convencionales de EIA (inmunoensayo enzimático,

por sus siglas en inglés). Las muestras de plasma se descongelaron y se diluyeron 1:30 en BSA al 0,1 % en PBS. Se siguió el protocolo de EIA para el análisis de histamina según lo indicado por el fabricante (Histamine EIA, Investigación biomédica de Oxford, EA N.º 31).

- 5 El LPA utilizado en el ensayo se formula de la siguiente manera: Se prepara LPA (1-oleoil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfato (sal de sodio), 857130P, Avanti Polar Lipids) en BSA al 0,1 %/PBS para una concentración total de 2 µg/µl. Se pesan 13 mg de LPA y se añaden 6,5 ml de BSA al 0,1 %, se agitan con formación de vórtice y se someten a ultrasonidos durante ~1 hora hasta que se consiga una solución transparente.

10 V. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS, FORMULACIONES Y COMBINACIONES

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. La composición farmacéutica también puede contener al menos un ingrediente inactivo farmacéuticamente aceptable.

- 15 En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, y al menos un ingrediente inactivo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede formularse para inyección intravenosa, inyección subcutánea, administración oral, inhalación, administración nasal, administración 20 tópica, administración oftálmica o administración ótica. La composición farmacéutica puede ser un comprimido, una píldora, una cápsula, un líquido, un inhalante, una solución de pulverización nasal, un suppositorio, una suspensión, un gel, un coloide, una dispersión, una suspensión, una solución, una emulsión, una pomada, una loción, un colirio o una gota ótica.

- 25 La composición farmacéutica puede comprender además uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales seleccionados de: corticoesteroides (por ejemplo, dexametasona o fluticasona), inmunosupresores (por ejemplo, tacrolimus y pimecrolimus), analgésicos, agente antineoplásico, antiinflamatorios, antagonistas de receptores de quimiocinas, broncodilatadores, antagonistas de receptores de leucotrienos (por ejemplo, montelukast o zafirlukast), inhibidores de la formación de leucotrienos, inhibidores de la monoacilglicerol cinasa, inhibidores de la fosfolipasa A₁, 30 inhibidores de la fosfolipasa A₂ e inhibidores de la lisofosfolipasa D (lysoPLD), inhibidores de autotaxina, descongestivos, antihistamínicos (por ejemplo, loratadina), mucolíticos, anticolinérgicos, antitusivos, expectorantes, antiinfecciosos (por ejemplo, ácido fusídico, particularmente para el tratamiento de la dermatitis atópica), antifúngicos (por ejemplo, clotriazol, especialmente para la dermatitis atópica), terapias con anticuerpos anti-IgE (por ejemplo, omalizumab), agonistas adrenérgicos β-2 (por ejemplo, albuterol o salmeterol), otros antagonistas de PGD2 que 35 actúan en otros receptores tales como antagonistas de DP, inhibidores de PDE4 (por ejemplo, cilomilast), fármacos que modulan la producción de citocinas, por ejemplo, inhibidores de TACE, fármacos que modulan la actividad de las citocinas Th2 IL-4 e IL-5 (por ejemplo, bloqueando anticuerpos monoclonales y receptores solubles), agonistas de PPAR γ (por ejemplo, rosiglitazona y pioglitazona), inhibidores de la 5-lipoxigenasa (por ejemplo, zileutón).

- 40 La composición farmacéutica puede comprender además uno o más agentes antifibróticos adicionales seleccionados de pirfenidona, nintedanib, talidomida, carlumab, FG-3019, fresolimumab, interferón alfa, superóxido dismutasa lecitinizada, simtuzumab, tanzisertib, tralokinumab, hu3G9, AM-152, IFN-gamma-1b, IW-001, PRM-151, PXS-25, pentoxyfilina/N-acetil-cisteína, pentoxyfilina/vitamina E, sulfato de salbutamol, [Sar9, Met(O2)11]-Sustancia P, pentoxyfilina, bitartrato de mercaptamina, ácido obetílico, aramcol, GFT-505, éster etílico del ácido eicosapentaenoico, metformina, metreleptina, muromonab-CD3, oltipraz, IMM-124-E, MK-4074, PX-102, RO-45 5093151. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método, comprendiendo el método administrar un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, a un ser humano con una enfermedad o afección dependiente de LPA o mediada por LPA. Al ser humano ya se le puede haber administrado uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales distintos de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. El método puede comprender además administrar uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales distintos de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

- 55 El uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales distintos de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, pueden seleccionarse de: corticoesteroides (por ejemplo, dexametasona o fluticasona), inmunosupresores (por ejemplo, tacrolimus y pimecrolimus), analgésicos, agente antineoplásico, antiinflamatorios, antagonistas de receptores de quimiocinas, broncodilatadores, antagonistas de receptores de leucotrienos (por ejemplo, montelukast o zafirlukast), inhibidores de la formación de leucotrienos, inhibidores de la monoacilglicerol cinasa, inhibidores de la fosfolipasa A₁, inhibidores de la fosfolipasa A₂ e inhibidores de la lisofosfolipasa D (lysoPLD), inhibidores de autotaxina, descongestivos, antihistamínicos (por ejemplo, loratadina), mucolíticos, anticolinérgicos, antitusivos, expectorantes, antiinfecciosos (por ejemplo, ácido fusídico, particularmente para el tratamiento de la dermatitis atópica), antifúngicos (por ejemplo, clotriazol, especialmente para la dermatitis atópica), terapias con anticuerpos anti-IgE (por ejemplo, omalizumab), agonistas adrenérgicos β-2 (por ejemplo, albuterol o salmeterol), otros antagonistas de PGD2 que actúan en otros receptores tales como antagonistas de DP, 60 inhibidores de PDE4 (por ejemplo, cilomilast), fármacos que modulan la producción de citocinas, por ejemplo, inhibidores de TACE, fármacos que modulan la actividad de las citocinas Th2 IL-4 e IL-5 (por ejemplo, bloqueando

anticuerpos monoclonales y receptores solubles), agonistas de PPAR γ (por ejemplo, rosiglitazona y pioglitazona), inhibidores de la 5-lipoxygenasa (por ejemplo, zileutón).

5 El uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales distintos de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, pueden ser otros agentes antifibróticos seleccionados de pirfenidona, nintedanib, talidomida, carlumab, FG-3019, fresolimumab, interferón alfa, superóxido dismutasa lecitinizada, simtuzumab, tanzisertib, tralokinumab, hu3G9, AM-152, IFN-gamma-1b, IW-001, PRM-151, PXS-25, pentoxifilina/N-acetil-cisteína, pentoxifilina/vitamina E, sulfato de salbutamol, [Sar9, Met(O2)11]-Sustancia P, pentoxifilina, bitartrato de mercaptamina, ácido obeticólico, aramcol, GFT-505, eicosapentilo éster, metformina, 10 metreleptina, muromonab-CD3, oltipraz, IMM-124-E, MK-4074, PX-102, RO-5093151.

15 El uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales distintos de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, pueden seleccionarse de inhibidores de la ECA, ramipril, Todos los antagonistas, irbesartán, antiarrítmicos, dronedarona, activadores de PPAR α , activadores de PPAR γ , pioglitazona, 20 rosiglitazona, prostanoides, antagonistas de receptores de endotelina, inhibidores de la elastasa, antagonistas de calcio, betabloqueantes, diuréticos, antagonistas de receptores de aldosterona, eplerenona, inhibidores de la renina, inhibidores de rho cinasa, activadores de guanilato ciclase soluble (sGC), sensibilizadores de sGC, inhibidores de PDE, inhibidores de PDE5, donantes de NO, fármacos de digitalis, inhibidores de ACE/NEP, estatinas, inhibidores de la recaptación de ácidos biliares, antagonistas de PDGF, antagonistas de vasopresina, acuaréticos, inhibidores de NHE1, antagonistas del Factor Xa, antagonistas del Factor XIIa, anticoagulantes, antitrombóticos, inhibidores plaquetarios, profibrolíticos, inhibidores de la fibrinólisis activables por trombina (TAFI), inhibidores de PAI-1, 25 cumarinas, heparinas, antagonistas de tromboxano, antagonistas de serotonina, inhibidores de COX, aspirina, anticuerpos terapéuticos, antagonistas de GPIIb/IIIa, antagonistas de ER, SERM, inhibidores de tirosina cinasas, inhibidores de la cinasa RAF, inhibidores de p38 MAPK, pirfenidona, inhibidores multi-cinasa, nintedanib, sorafenib.

25 30 El uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales distintos de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, pueden seleccionarse del mAb Gremlin-1, mAb PA1-1, Promedior (PRM-151; Pentraxina-2 humana recombinante); FGF21, antagonistas de TGF β , pan-antagonistas de $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta$; inhibidores de FAK, inhibidores de TG2, inhibidores de LOXL2, inhibidores de NOX4, inhibidores de MGAT2, antagonistas de GPR120.

35 40 Las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden ser administrables a un sujeto en una diversidad de formas mediante múltiples vías de administración, incluyendo, pero sin limitación, las vías de administración oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intramuscular), intranasal, bucal, tópica o transdérmica. Las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, dispersiones líquidas acuosas, dispersiones autoemulsionantes, soluciones sólidas, dispersiones liposómicas, aerosoles, formas farmacéuticas sólidas, polvos, formulaciones de liberación inmediata, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de fusión rápida, comprimidos, cápsulas, píldoras, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones de multipartículas y formulaciones mixtas de liberación inmediata y controlada.

45 El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede administrarse por vía oral.

50 55 El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede administrarse por vía tópica. El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede formularse en una diversidad de composiciones administrables por vía tópica, tales como soluciones, suspensiones, lociones, geles, pastas, champús, exfoliantes, solución para frotar, frotis, barras medicamentosas, vendas medicamentosas, bálsamos, cremas o pomadas. Dichos compuestos farmacéuticos pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, tampones y conservantes. El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede administrarse por vía tópica en la piel.

60 El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede administrarse por inhalación. El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede administrarse por inhalación que se dirige directamente al sistema pulmonar.

65 El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede formularse para la administración intranasal. Dichas formulaciones incluyen pulverizaciones nasales, nieblas nasales y similares.

60 El compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede formularse en forma de colirios.

65 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, puede usarse en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad, trastorno o afección en la que la actividad de al menos un receptor de LPA contribuye a la patología y/o los síntomas de la enfermedad o afección. El LPA puede seleccionarse de LPA₁, LPA₂, LPA₃, LPA₄, LPA₅ y LPA₆. El receptor de LPA puede ser LPA₁. La enfermedad o afección puede ser

cualquiera de las enfermedades o afecciones especificadas en el presente documento.

Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede administrarse usando métodos en los que: (a) la cantidad eficaz del compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, se administra al mamífero por vía sistémica; y/o (b) la cantidad eficaz del compuesto se administra al mamífero por vía oral; y/o (c) la cantidad eficaz del compuesto se administra al mamífero por vía intravenosa; y/o (d) la cantidad eficaz del compuesto se administra por inhalación; y/o (e) la cantidad eficaz del compuesto se administra mediante administración nasal; o y/o (f) la cantidad eficaz del compuesto se administra al mamífero mediante inyección; y/o (g) la cantidad eficaz del compuesto se administra al mamífero por vía tópica; y/o (h) la cantidad eficaz del compuesto se administra mediante administración oftálmica; y/o (i) la cantidad eficaz del compuesto se administra al mamífero por vía rectal; y/o (j) la cantidad eficaz se administra al mamífero por vía no sistémica o por vía local.

Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede administrarse usando métodos que comprenden administraciones únicas de la cantidad eficaz del compuesto, incluyendo métodos en los que (i) el compuesto se administra una vez; (ii) el compuesto se administra al mamífero múltiples veces durante un día; (iii) de forma constante; o (iv) de forma continua.

Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en métodos que implican administraciones múltiples de la cantidad eficaz del compuesto, incluyendo métodos en los que (i) el compuesto se administra de manera continua o intermitente: en forma de una dosis única; (ii) el tiempo entre múltiples administraciones es cada 6 horas; (iii) el compuesto se administra al mamífero cada 8 horas; (iv) el compuesto se administra al mamífero cada 12 horas; (v) el compuesto se administra al mamífero cada 24 horas. El método puede comprender un período de reposo farmacológico, en donde la administración del compuesto se suspende de manera temporal o la dosis del compuesto que se administra se reduce de manera temporal; al final del período de reposo farmacológico, la dosificación del compuesto se reanuda. La duración del período de reposo farmacológico varía de 2 días a 1 año.

También se proporciona un método de inhibición de la actividad fisiológica de LPA en un mamífero, que comprende administrar al mamífero que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar una enfermedad o afección dependiente de LPA o mediada por LPA en un mamífero, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar o prevenir una enfermedad o afección dependiente de evitar LPA o mediada por LPA en un mamífero, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

Las enfermedades o afecciones dependientes de LPA o mediadas por LPA incluyen, pero sin limitación, fibrosis de órganos o tejidos, formación de cicatrices, enfermedades hepáticas, afecciones dermatológicas, cáncer, enfermedad cardiovascular, enfermedades o afecciones respiratorias, enfermedad inflamatoria, enfermedad del tracto gastrointestinal, nefropatía, enfermedad asociada al tracto urinario, enfermedad inflamatoria del tracto urinario inferior, disuria, micción frecuente, enfermedad pancreática, obstrucción arterial, infarto cerebral, hemorragia cerebral, dolor, neuropatía periférica y fibromialgia.

La enfermedad o afección dependiente de LPA o mediada por LPA puede ser una enfermedad o afección respiratoria. La enfermedad o afección respiratoria puede ser asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, hipertensión arterial pulmonar o síndrome de dificultad respiratoria aguda.

La enfermedad o afección dependiente de LPA o mediada por LPA se selecciona de fibrosis pulmonar idiopática; otras enfermedades pulmonares parenquimatosas difusas de diferentes etiologías, incluyendo fibrosis yatrogénica inducida por fármacos, fibrosis laboral y/o ambiental inducida, enfermedades granulomatosas (sarcoidosis, neumonía por hipersensibilidad), enfermedad vascular por colágeno, proteinosis alveolar, granulomatosis de células de Langerhans, linfangioliomatosis, enfermedades hereditarias (síndrome de Hermansky-Pudlak, esclerosis tuberosa, neurofibromatosis, trastornos del almacenamiento metabólico, enfermedad pulmonar intersticial familiar); fibrosis inducida por radiación; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); esclerodermia; fibrosis pulmonar inducida por bleomicina; asma crónica; silicosis; fibrosis pulmonar inducida por el amianto; síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA); fibrosis renal; fibrosis del tubulointersticio; nefritis glomerular; esclerosis glomerular segmentaria focal; nefropatía de IgA; hipertensión; Alport; fibrosis intestinal; fibrosis hepática; cirrosis; fibrosis hepática inducida por alcohol; fibrosis hepática tóxica/inducida por fármacos; hemocromatosis; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); lesión del conducto biliar; cirrosis biliar primaria; infección inducida por fibrosis hepática; fibrosis hepática inducida por virus; y hepatitis autoinmunitaria; cicatrices corneales; cicatrices hipertróficas; enfermedad de Duputren, queloides, fibrosis cutánea; esclerodermia cutánea; lesión de la médula espinal/fibrosis; mielofibrosis; reestenosis vascular;

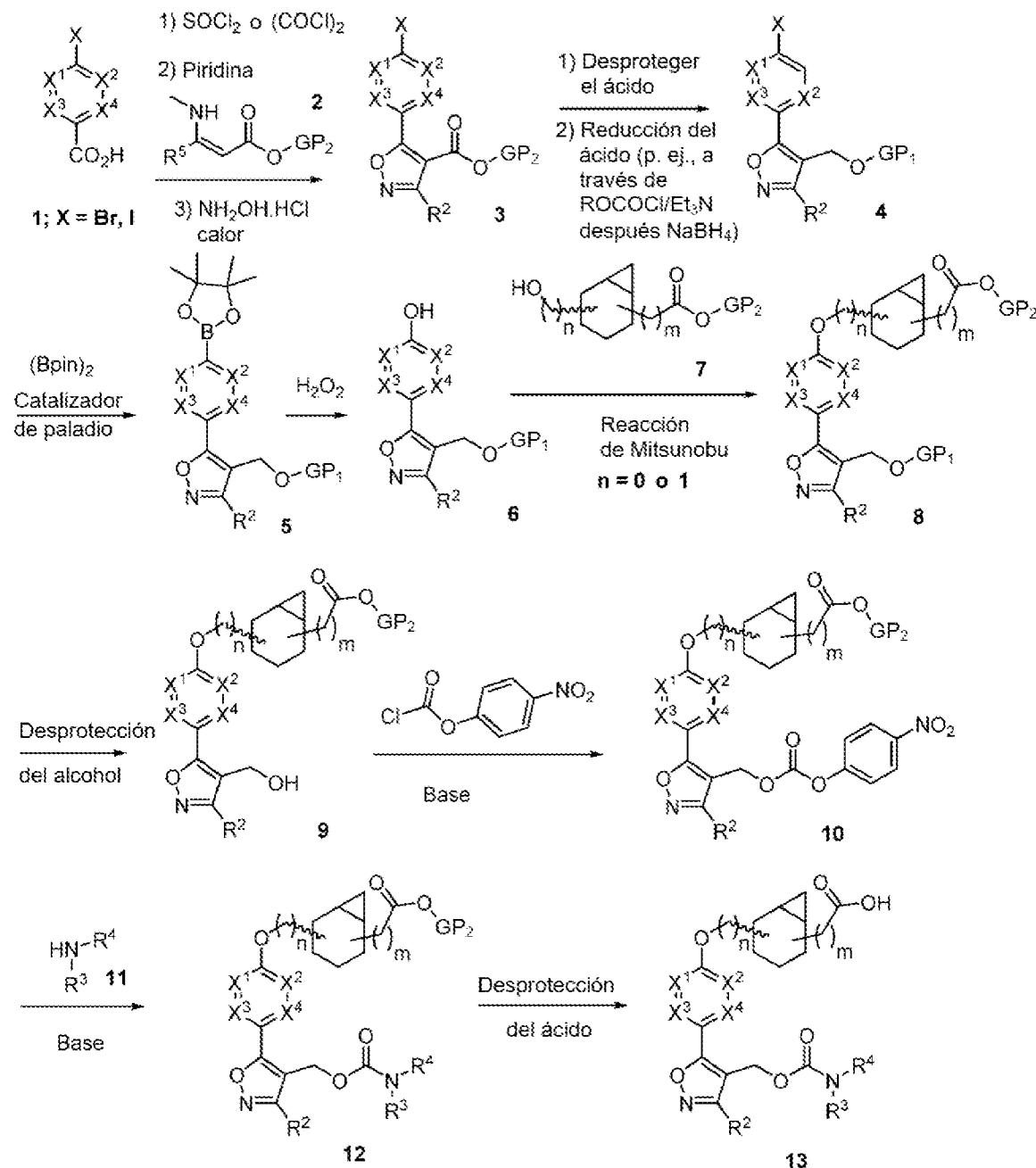
ateroesclerosis; arteriosclerosis; granulomatosis de Wegener; enfermedad de Peyronie, leucemia linfocítica crónica, metástasis tumoral, rechazo de trasplante de órgano, endometriosis, síndrome de dificultad respiratoria neonatal y dolor neuropático.

- 5 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar o prevenir la fibrosis de órganos en un mamífero, comprendiendo dicho método administrar a un mamífero que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz y tolerable de un compuesto de la Fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.
- 10 La fibrosis de órganos comprende fibrosis pulmonar, fibrosis renal o fibrosis hepática.
- Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para mejorar la función pulmonar en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. El mamífero puede haber sido diagnosticado con fibrosis pulmonar.
- 15 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar la fibrosis pulmonar idiopática (neumonía intersticial común) en un mamífero.
- 20 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar enfermedades pulmonares intersticiales parenquimatosas difusas en mamíferos: yatrogénicas inducidas por fármacos, laborales/ambientales (pulmón de granjero), enfermedades granulomatosas (sarcoidosis, neumonía por hipersensibilidad), enfermedad vascular del colágeno (esclerodermia y otras), proteinosis alveolar, granulomatosis de células de Langerhans, linfangiolomiomatosis, síndrome de Hermansky-Pudlak, esclerosis tuberosa, neurofibromatosis, trastornos del almacenamiento metabólico, enfermedad pulmonar intersticial familiar.
- 25 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar la fibrosis postrasplante asociada al rechazo crónico en un mamífero: bronquiolitis obliterante por trasplante pulmonar.
- 30 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar la fibrosis cutánea en un mamífero: esclerodermia cutánea, enfermedad de Dupuytren, queloides.
- 35 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar la fibrosis hepática con o sin cirrosis en un mamífero: tóxica/inducida por fármacos (hemocromatosis), esteatosis hepática alcohólica, hepatitis vírica (virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, VHC), enfermedad hepática no alcohólica (NAFLD, NASH), enfermedad metabólica y autoinmunitaria.
- 40 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en un método para tratar la fibrosis renal en un mamífero: fibrosis del tubulointersticio, esclerosis glomerular.
- 45 El método de tratamiento de enfermedades o afecciones dependientes de LPA puede comprender la administración de al menos un agente adicional además de la administración de un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. Cada agente puede administrarse en cualquier orden, incluyendo de manera simultánea.
- El mamífero puede ser un ser humano.
- 50 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede administrarse a un ser humano.
- Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede administrarse por vía oral.
- 55 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden usarse como antagonistas de al menos un receptor de LPA. Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse para inhibir la actividad de al menos un receptor de LPA o para el tratamiento de una enfermedad o afección que se beneficiaría de la inhibición de la actividad de al menos un receptor de LPA. El receptor de LPA puede ser LPA₁.
- 60 Un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse para la formulación de un medicamento para la inhibición de la actividad de LPA₁.
- VI. SÍNTESIS GENERAL INCLUYENDO ESQUEMAS
- 65 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse de diversas formas conocidas por un experto en la materia de la síntesis orgánica. Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse usando los métodos que

se describen a continuación, junto con los métodos de síntesis conocidos en la técnica de la química orgánica sintética o mediante variaciones en los mismos como apreciarán los expertos en la materia. Los métodos preferidos incluyen, pero sin limitación, los que se describen a continuación. Las reacciones se realizan en un disolvente o una mezcla de disolventes adecuada a los reactivos y materiales empleados y adecuada para las transformaciones que se efectúen.

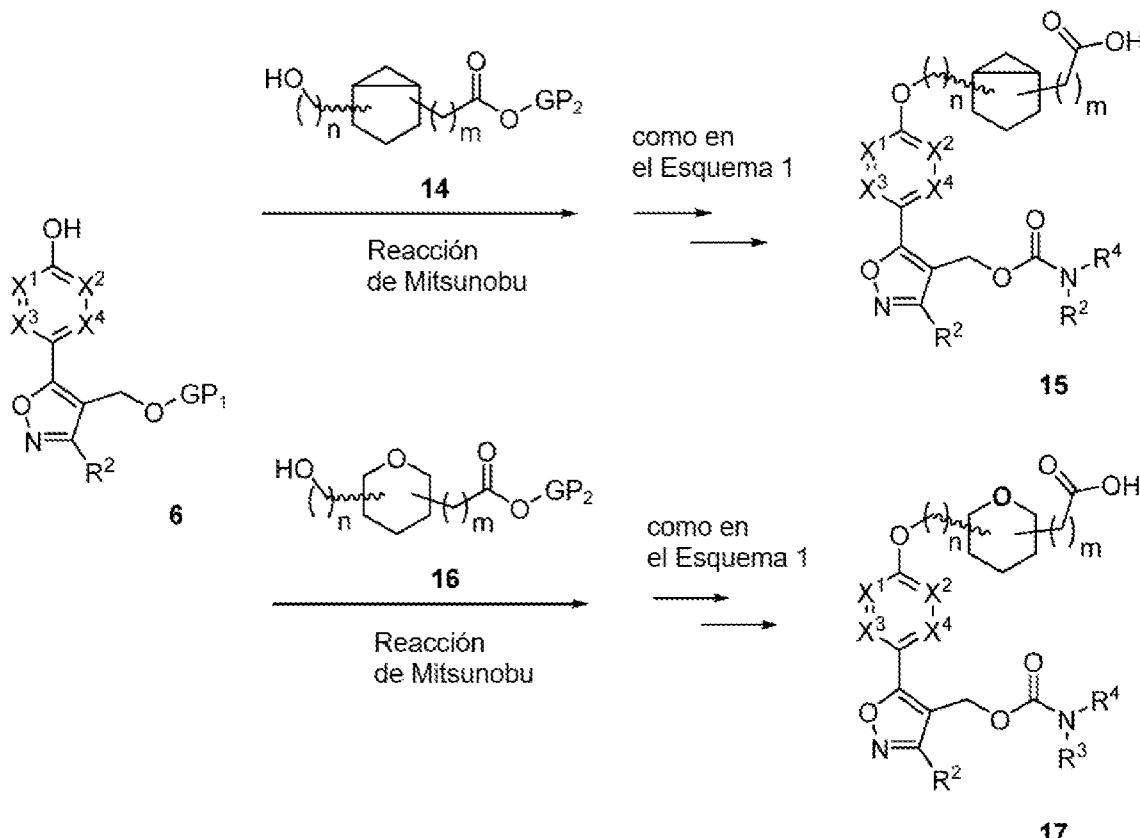
- 5 Los expertos en la técnica de la síntesis orgánica entenderán que la funcionalidad presente en la molécula debe ser coherente con las transformaciones propuestas. En ocasiones esto requerirá una valoración para modificar el orden de las etapas de síntesis o para seleccionar un esquema de proceso particular frente a otro para obtener un compuesto deseado de la invención.
- 10 También se reconocerá que otra consideración principal al planear cualquier vía sintética en este campo es la elección juiciosa del grupo protector utilizado para la protección de los grupos funcionales reactivos presentes en los compuestos descritos en la presente invención. Una descripción autorizada que describe las muchas alternativas al profesional capacitado es Greene *et al.*, (*Protective Groups in Organic Synthesis*, Cuarta edición, Wiley-Interscience (2006)).
- 15 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante los procesos de ejemplo descritos en los esquemas y ejemplos de trabajo a continuación, así como procedimientos pertinentes publicados en la bibliografía que son utilizados por un experto en la materia. Los reactivos y procedimientos de ejemplo para estas reacciones aparecen en lo sucesivo en el presente documento y en los ejemplos de trabajo. La protección y desprotección en los procesos 20 a continuación puede realizarse mediante procedimientos generalmente conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Wuts, P.G.M., *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 5.^a edición, Wiley (2014)). Se encuentran métodos generales de síntesis orgánica y transformaciones de grupos funcionales en: Trost, B.M. *et al.*, Eds., *Comprehensive Organic Synthesis: Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry*, Pergamon Press, Nueva York, NY (1991); Smith, M.B. *et al.*, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*. 7.^a edición, Wiley, Nueva York, NY (2013); Katritzky, A. R. *et al.*, Eds., *Comprehensive Organic Functional Group Transformations II*, 2.^a edición, Elsevier Science Inc., Tarrytown, NY (2004); Larock, R.C., *Comprehensive Organic Transformations*, 2.^a edición, Wiley-VCH, Nueva York, NY (1999) y las referencias en los mismos.
- 25 El Esquema 1 describe la síntesis de los ácidos de O-carbamoil isoxazol aril(heteroaril)oxi-ciclo-alquilo 13 (en donde X¹ es CR⁵ y X² y X⁴ son ambos CH, y en donde n y m son ambos 0). Un ácido 4-halo (preferentemente bromo) fenil o azina (por ejemplo, piridina) benzoico 1 se convierte en el cloruro de ácido correspondiente (por ejemplo, con SOCl₂ o cloruro de oxalilo/DMF catalítico). Este intermedio de cloruro de ácido se hace reaccionar con un β-enamino-éster 2 sustituido, seguido de condensación con hidroxilamina para proporcionar el éster de 4-carboxilato de 5-halo(hetero)aril-isoxazol 3 correspondiente. La desprotección del éster 3 seguida de la reducción del ácido resultante 30 (por ejemplo, directamente con díborano o mediante un procedimiento de 2 etapas haciendo reaccionar el ácido con un cloroformiato de alquilo seguido de la reducción con, por ejemplo, NaBH₄, a baja temperatura) y la protección del alcohol resultante proporciona el alcohol 4 protegido con 5-halo(hetero)aril-isoxazol. La reacción de los haloaril o halo(hetero)aril-isoxazoles 4 con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio adecuado (por ejemplo, Ishiyama, T. *et al.*, *J. Org. Chem.* 1995, 60, 7508-7510) proporciona el boronato de pinacol 5 correspondiente, 35 que se oxida después con peróxido de hidrógeno para proporcionar el fenol o hidroxiheteroareno 6 correspondiente (por ejemplo, Fukumoto, S. *et al.*, documento WO 2012137982). La reacción del fenol/hidroxiheteroareno 6 con un éster hidroxi cicloalquílico 7 en condiciones de reacción de Mitsunobu (Kumara Swamy, K. C., *Chem. Rev.*, 2009, 109, 2551-2651) proporciona el éster de isoxazol cicloalquil éter 8 correspondiente. La desprotección del hidroximetilisoxazol 8 proporciona el alcohol de isoxazol de éster cicloalquílico 9. El alcohol de isoxazol 9 se hace reaccionar con un grupo activador en presencia de base (por ejemplo, cloroformiato de 4-nitrofenilo) para proporcionar el carbonato de 4-nitrofenilo 10, que se hace reaccionar con una amina 11 adecuada (R³R⁴NH) para proporcionar el O-carbamato de isoxazol 12. Después, la desprotección del éster cicloalquílico 12 proporciona los ácidos 40 cicloalquílicos de carbamato de isoxazol 13.
- 45

Esquema 1



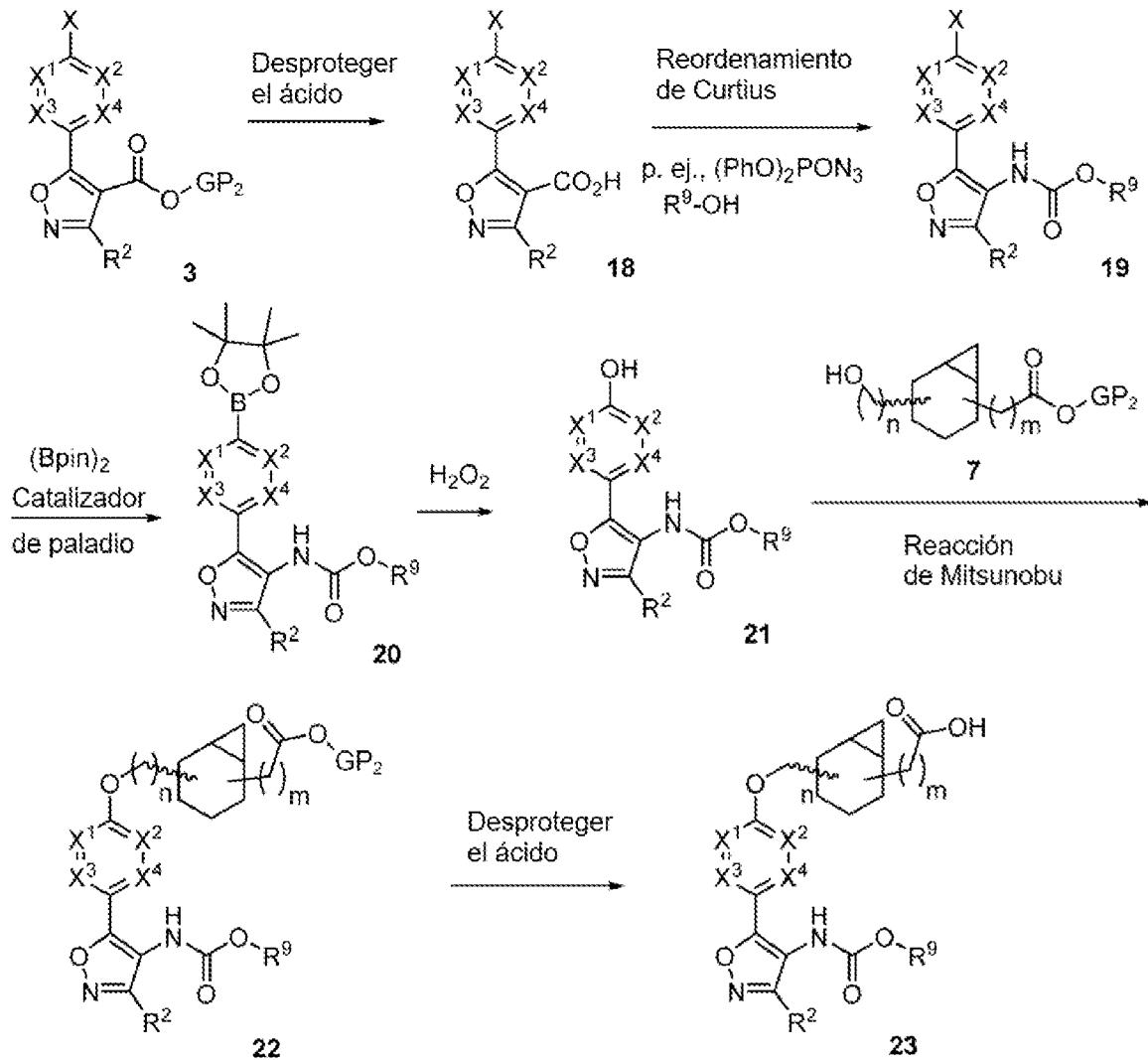
Como se muestra en el Esquema 1A, otros ésteres hidroxicicloalquílicos tales como 14 y ésteres hidroxitetrahidropiranicílicos tales como 16 también pueden hacerse reaccionar con fenol/hidroxiheteroareno 6 (con una reacción inicial de Mitsunobu) usando la misma secuencia que se describe en el Esquema 1 para la síntesis de los ácidos de carbamoiloximetil-isoxazol-ariloxicicloalquilo 15 y 17 (en donde X^1 es CR^5 y X^2 y X^4 son ambos CH , y en donde n y m son ambos 0) respectivamente.

Esquema 1A



- 5 El Esquema 2 describe la síntesis de ácidos de N-carbamoil isoxazol-arioloxi cicloalquilo 23 (no reivindicada). La desprotección del éster de isoxazol 3 proporciona el ácido de isoxazol 18. Un ácido 18 se somete a condiciones de reordenamiento de Curtius (por ejemplo, Ph_2PON_3) para proporcionar el isocianato intermedio, que se hace reaccionar *in situ* con un alcohol adecuado $\text{R}^4\text{-OH}$ para proporcionar el NH-carbamato de isoxazol 19. La reacción de los bromoaril o bromoheteroaril-isoxazoles 19 con díboronato de pinacol en presencia de un catalizador de paladio adecuado (por ejemplo, Ishiyama, T. *et al.*, *J. Org. Chem.* 1995, 60, 7508-7510) proporciona el boronato de pinacol 20 correspondiente, que se oxida después con peróxido de hidrógeno para proporcionar el fenol o hidroxiheteroareno 21 correspondiente (por ejemplo, Fukumoto, S. *et al.*, documento WO 2012137982). La reacción del fenol/hidroxiheteroareno 21 con un éster hidroxi cicloalquílico 7 en condiciones de reacción de Mitsunobu (Kumara Swamy, K. C., *Chem. Rev.*, 2009, 109, 2551-2651) proporciona el éster de isoxazol cicloalquil éter 22 correspondiente.
- 10 15 La desprotección del éster de ciclopentilo 18 proporciona los ácidos de isoxazol N-carbamoil cicloalquilo 23.

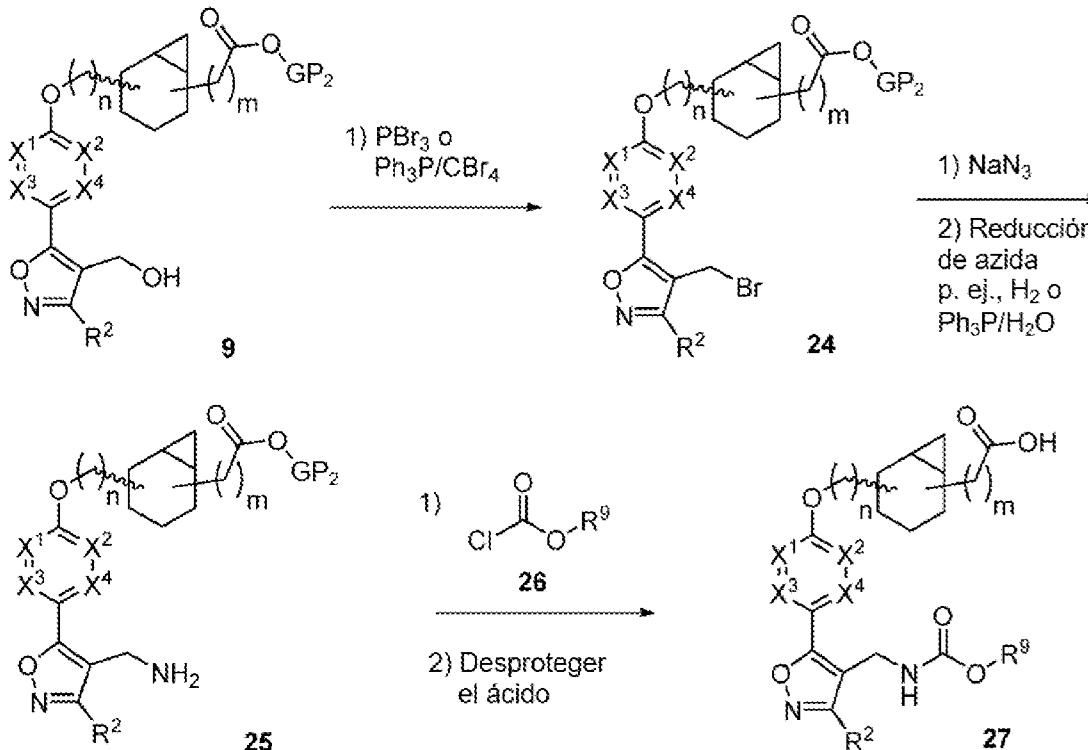
Esquema 2



- 5 El Esquema 3 describe la síntesis de ácidos de N-carbamoil isoxazol-ariloxi cicloalquilo 27 (no reivindicada). El alcohol de isoxazol 9 se hace reaccionar con PBr_3 (u otro agente de bromación suave tal como CBr_4/Ph_3P) para proporcionar el bromuro 24 correspondiente. El desplazamiento del bromuro de isoxazol 24 con NaN_3 (u otro reactivo de azida equivalente) proporciona la azida de isoxazol correspondiente, que se somete a reducción (por ejemplo, reducción de Staudinger con Ph_3P /agua) para proporcionar la amina de isoxazol 25. La amina de isoxazol 25 se hace reaccionar con un agente acilante adecuado (por ejemplo, un cloroformiato 26 o un carbonato de 4-nitrofenilo) para proporcionar el éster de carbamato de ciclopentil isoxazol N-H, que después se desprotege para proporcionar los ácidos de NH-carbamoil metil isoxazol-ariloxi ciclopentilo 27.

10

Esquema 3



5 VII. EJEMPLOS

Los Ejemplos a continuación se ofrecen a modo de ilustración, como un alcance parcial y realizaciones particulares de la invención y no pretenden limitar el alcance de la invención. Las abreviaturas y los símbolos químicos tienen su significado habitual y acostumbrado a menos que se indique otra cosa. A menos que se indique otra cosa, los compuestos descritos en el presente documento se han preparado, aislado y caracterizado usando los esquemas y otros métodos divulgados en el presente documento o pueden prepararse usando los mismos.

Según sea adecuado, las reacciones se realizan en atmósfera de nitrógeno (o argón) seco. Para las reacciones anhidras, se emplearon disolventes DRISOLV® de EM. Para otras reacciones, se usaron disolventes de calidad de reactivo o calidad de HPLC. A menos que se indique otra cosa, todos los reactivos obtenidos en el mercado se usaron tal como se recibieron.

Se realizaron reacciones de microondas usando un instrumento Biotage Initiator de 400 W en recipientes de reacción de microondas con irradiación de microondas (2,5 GHz).

20 Métodos de HPLC/EM y HPLC preparativa/analítica empleados en la caracterización o purificación de los ejemplos

Habitualmente los espectros de RMN (resonancia magnética nuclear) se obtuvieron con instrumentos Bruker o JEOL de 400 MHz y 500 MHz en los disolventes indicados. Todos los desplazamientos químicos se indican en ppm a partir de tetrametilsilano con la resonancia del disolvente como patrón interno. Los datos espectrales de la RMN 1H normalmente se indican de la siguiente manera: desplazamiento químico, multiplicidad (s = singulete, s a = singulete ancho, d = doblete, dd = doblete de dobletes, t = triplete, c = cuadruplete, sep = septuplete, m = multiplete, ap = aparente), constantes de acoplamiento (Hz) e integración.

30 En los ejemplos en los que los espectros de RMN 1H se recogieron en d_6 -DMSO, con frecuencia se utiliza una secuencia de supresión de agua. Esta secuencia suprime de manera eficaz la señal de agua y cualquier pico protónico en la misma región, normalmente entre 3,30-3,65 ppm, que afectaría a la integración protónica global.

35 El término HPLC se refiere a un instrumento de cromatografía de líquidos de alta resolución Shimadzu con uno de los métodos siguientes:

HPLC-1: columna Sunfire C18 (4,6 x 150 mm) 3,5 μ m, gradiente del 10 al 100 % de B:A durante 12 min, después una retención de 3 minutos al 100 % de B.

Fase móvil A: TFA al 0,05 % en agua:CH₃CN (95:5)

Fase móvil B: TFA al 0,05 % en CH₃CN:agua (95:5)

Tampón de TFA pH = 2,5; Caudal: 1 ml/min; Longitud de onda: 254 nm, 220 nm.

HPLC-2: XBridge Phenyl (4,6 x 150 mm) 3,5 µm, gradiente del 10 al 100 % de B:A durante 12 min, después una retención de 3 minutos al 100 % de B.

5 Fase móvil A: TFA al 0,05 % en agua:CH₃CN (95:5)

Fase móvil B: TFA al 0,05 % en CH₃CN:agua (95:5)

Tampón de TFA pH = 2,5; Caudal: 1 ml/min; Longitud de onda: 254 nm, 220 nm.

HPLC-3: Chiraldak AD-H, 4,6 x 250 mm, 5 µm.

Fase móvil: 30 % de EtOH-heptano (1:1)/70 % de CO₂

10 Caudal = 40 ml/min, 10.000 kPa (100 bar), 35 °C; Longitud de onda: 220 nm

HPLC-4: Waters Acquity UPLC BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm;

Fase móvil A: CH₃CN:agua 5:95 con NH₄OAc 10 mM;

Fase móvil B: CH₃CN:agua 95:5 con NH₄OAc 10 mM;

15 Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B durante 3 min, después una retención de 0,75 min al 100 % de B;

Flujo: 1,11 ml/min; Detección: UV a 220 nm.

HPLC-5: Waters Acquity UPLC BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm;

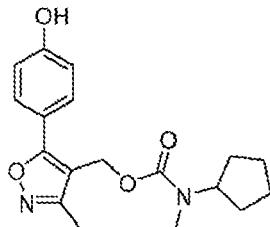
Fase móvil A: CH₃CN:agua 5:95 con TFA al 0,1 %;

Fase móvil B: CH₃CN:agua 95:5 con TFA al 0,1 %;

20 Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0-100 % de B durante 3 min, después una retención de 0,75 min al 100 % de B;

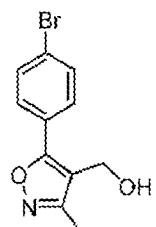
Flujo: 1,11 ml/min; Detección: UV a 220 nm.

Intermedio 1. ciclopentil(metil)carbamato de (5-(4-hidroxifenil)-3-metilisoxazol-4-il)metilo



25

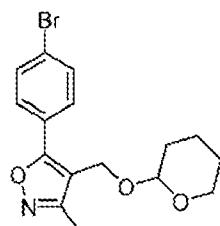
Intermedio 1A. (5-(4-bromofenil)-3-metilisoxazol-4-il)metanol



30 A una solución de ácido 5-(4-bromofenil)-3-metilisoxazol-4-carboxílico (sintetizado de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento US2011/82164 A1, 2,0 g, 7,09 mmol) en THF (50 ml) se le añadió BH₃·THF (28,4 ml de una solución 1 M en THF, 28,4 mmol) en porciones a 0 °C y la solución se dejó calentar a TA y se agitó durante la noche a TA. La mezcla de reacción se inactivó cuidadosamente con H₂O, se acidificó con HCl ac. 1 N (50 ml), se agitó durante 1 h a TA, después se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H₂O, salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (SiO₂; gradiente continuo del 35-

35 75 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (1,65 g, 87 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, [M+H]⁺ = 268. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,73-7,64 (m, 4H), 4,66 (d, *J* = 5,1 Hz, 2H), 2,42 (s, 3H).

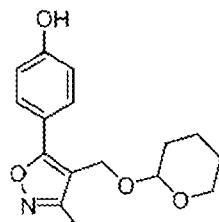
40 Intermedio 1B. 5-(4-bromofenil)-3-metil-4-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)isoxazol



A una solución del Intermedio 1A (626 mg, 2,33 mmol) en CH₂Cl₂ se le añadieron (10 ml) 3,4-dihidro-2H-pirano

(0,64 ml, 7,0 mmol) y PPTS (29 mg, 0,12 mmol). Después de agitar durante la noche a TA, la mezcla se inactivó con NaHCO_3 ac. sat. y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H_2O , salmuera, se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo del 35-100 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (811 mg, 99 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 358$. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,82-7,55 (m, 4H), 4,69 (m, 1H), 4,65 (m, 1H), 4,46 (m, 1H), 3,87 (m, 1H), 3,54 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 1,86-1,55 (m, 6H).

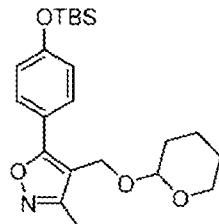
5 Intermedio 1C. 4-(3-metil-4-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)isoxazol-5-il)fenol



10

A una solución de KOH (2,70 g, 48,1 mmol) en H_2O (50 ml), se le añadieron sucesivamente Intermedio 1B (5,65 g, 16,0 mmol) y 1,4-dioxano (50 ml) y la solución se desgasificó con N_2 . Se añadieron -BuXphos (0,545 g, 1,28 mmol) y $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,294 g, 0,321 mmol) y la suspensión se desgasificó con N_2 , después se agitó a 90 °C durante la noche. 15 La mezcla de reacción se enfrió a TA, se acidificó con HCl ac. 1 N y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H_2O , salmuera, se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo del 25-75 % de EtOAc/Hexanos) para proporcionar el compuesto del título (3,63 g, 78 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 290$. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,72 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,94 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,70 (m, 1H), 4,66 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 4,48 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 20 3,89 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 1,88-1,70 (m, 2H), 1,65-1,57 (m, 4H).

Intermedio 1D. 5-(4-((terc-butildimethylsilyl)oxi)fenil)-3-metil-4-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)isoxazol

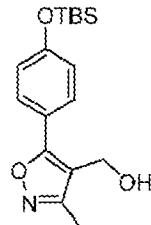


25

A una solución a TA del Intermedio 1C (2,0 g, 6,91 mmol) en DMF (50 ml) se le añadieron TBSCl (2,08 g, 13,8 mmol) e imidazol (1,88 g, 27,7 mmol). La reacción se agitó a TA durante 6 h; después se añadió H_2O (4 ml). La mezcla se concentró parcialmente al vacío, se diluyó con H_2O , se acidificó con HCl ac. 1 N y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H_2O , LiCl ac. al 10 %, se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. 30 El residuo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo del 0-30 % de EtOAc/Hexanos) para proporcionar el compuesto del título (2,55 g, 91 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 404$. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,75-7,67 (m, 2H), 6,93 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,71-4,68 (m, 1H), 4,66 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 4,48 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 3,88 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 1,87-1,78 (m, 1H), 1,76-1,69 (m, 1H), 1,65-1,54 (m, 4H), 1,00 (s, 9H), 0,23 (s, 6H).

35

Intermedio 1E. (5-(4-((terc-butildimethylsilyl)oxi)fenil)-3-metilisoxazol-4-il)metanol

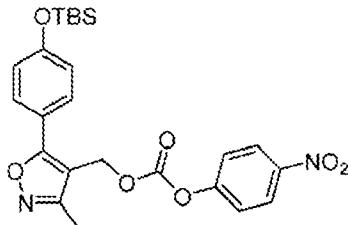


40 A una solución a TA del Intermedio 1D (2,45 g, 6,07 mmol) en MeOH (75 ml) se le añadió PPTS (0,30 g, 1,21 mmol). La reacción se calentó a 50 °C durante 2 h, después se enfrió a TA y se concentró al vacío. La mezcla se diluyó con H_2O y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H_2O , se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo del 25-50 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (1,18 g, 61 % de rendimiento) en forma de un sólido de color

blanco. CL-EM, $[M+H]^+ = 320$. RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,68 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,94 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,63 (s, 2H), 2,37 (s, 3H), 1,00 (s, 9H), 0,24 (s, 6H).

Intermedio 1F. (4-nitrofenil)carbonato de (5-(4-((terc-butildimethylsilyl)oxi)fenil)-3-metilisoxazol-4-il)metilo

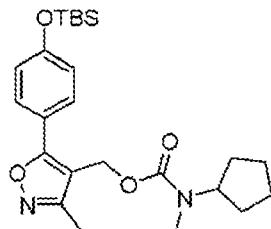
5



A una solución a TA del Intermedio 1E (1,8 g, 5,63 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml) se le añadieron sucesivamente piridina (2,28 ml, 28,2 mmol) y cloroformiato de 4-nitrofenilo (1,82 g, 9,01 mmol) en porciones. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 1 h, después se concentró al vacío y el residuo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo del 0-40 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título ligeramente impuro (2,95 g, 108 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, $[M+H]^+ = 485$. RMN 1H (500MHz, $CDCl_3$) δ 8,28 (d, $J = 9,1$ Hz, 2H), 7,68 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,40 (d, $J = 9,4$ Hz, 2H), 6,98 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 5,27 (s, 2H), 2,43 (s, 3H), 1,00 (s, 9H), 0,25 (s, 6H).

15

Intermedio 1G. ciclopentil(metil)carbamato de (5-(4-((terc-butyldimethylsilyl)oxi)fenil)-3-metilisoxazol-4-il)metilo

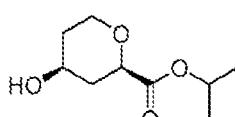


A una solución a TA del Intermedio 1F (1,5 g, 3,10 mmol) en THF (24 ml) se le añadieron iPr₂NEt (1,62 ml, 9,29 mmol) y N-metilciclopantanamina (0,61 g, 6,19 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a TA, después se diluyó con H_2O y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con $NaHCO_3$ ac. sat, H_2O , se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo del 10-40 % de EtOAc/Hexanos) para proporcionar el compuesto del título (1,08 g, 78 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, $[M+H]^+ = 445$. RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,67 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,94 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,70-4,29 (m, 1H), 2,76 (s a, 3H), 2,38 (s, 3H), 1,82-1,49 (m, 8H), 1,00 (s, 9H), 0,24 (s, 6H).

Intermedio 1

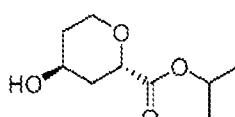
A una solución del Intermedio 1G (1,08 g, 2,429 mmol) en THF (24 ml) se le añadió Bu_4NF (3,04 ml de una solución 1 M en THF, 3,04 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 1,5 h, después se concentró al vacío, se diluyó con H_2O , se acidificó con HCl ac. 1 N y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H_2O , salmuera, se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo del 25-60 % de EtOAc/Hexanos) para proporcionar el compuesto del título (619 mg, 77 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, $[M+H]^+ = 331$. RMN 1H (500MHz, $CDCl_3$) δ 7,63 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,97 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 5,12 (s, 2H), 4,79-4,19 (m, 1H), 2,78 (s a, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,00-1,33 (m, 8H).

Intermedio 2. (\pm)-cis-4-hidroxitetrahidro-2H-piran-2-carboxilato de isopropilo

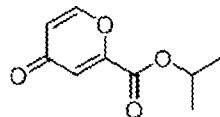


40

Intermedio 3. (\pm)-trans-4-hidroxitetrahidro-2H-piran-2-carboxilato de isopropilo.



45

Intermedio 2A. (\pm)-4-oxo-4H-piran-2-carboxilato de isopropilo

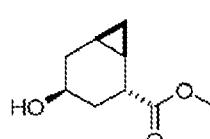
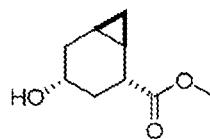
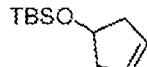
- 5 A una suspensión de ácido 4-oxo-4H-piran-2-carboxílico (5,0 g, 35,7 mmol) en iPrOH (120 ml) a 0 °C se le añadió H₂SO₄ conc.(0,95 ml, 17,8 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante la noche, después se enfrió a TA y se agitó durante 3 días a TA, después se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua helada y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ ac. sat. y salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía (SiO₂; gradiente continuo del 50-100 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (4,06 g, 62 %) en forma de un aceite. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,84 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,45 (dd, *J* = 5,8, 2,5 Hz, 1H), 5,28 (dt, *J* = 12,5, 6,3 Hz, 1H), 1,40 (d, *J* = 6,2 Hz, 6H).
- 10
- 15
- 20

Intermedios 2 y 3

- 25 A una solución a TA del Intermedio 2A (4,06 g, 22,3 mmol) en EtOAc (50 ml) se le añadió Pd/C (0,71 g, 0,67 mmol, 10 %) y la mezcla de reacción se cargó con H₂ a 379,21 kPa (55 psi). La reacción se agitó durante la noche a TA; se añadió más Pd/C (0,60 g, 0,57 mmol, 10 %) y la mezcla se cargó con H₂ a 379,21 kPa (55 psi) nuevamente y se agitó durante la noche a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite® y el filtrado se concentró al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía (SiO₂, gradiente continuo del 30-100 % de EtOAc en hexano) para obtener los compuestos del título en forma de aceites.

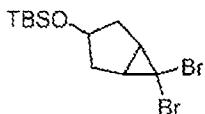
El Intermedio 2 es el segundo isómero en eluir (1,01 g, 24 %). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,20-5,09 (m, 1H), 4,24-4,18 (m, 1H), 3,96 (dd, *J* = 11,1, 2,6 Hz, 1H), 3,94-3,87 (m, 1H), 3,49 (td, *J* = 11,8, 2,2 Hz, 1H), 2,34-2,29 (m, 1H), 1,97-1,91 (m, 1H), 1,66-1,57 (m, 3H), 1,30 (dd, *J* = 6,2, 3,2 Hz, 6H).

El Intermedio 3 es el primer isómero en eluir (613 mg, 15 %). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,16-5,07 (m, 1H), 4,42 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,25-4,20 (m, 1H), 3,95-3,93 (m, 1H), 3,93-3,92 (m, 1H), 1,97-1,93 (m, 2H), 1,93-1,89 (m, 1H), 1,62-1,57 (m, 1H), 1,27 (dd, *J* = 6,2, 4,5 Hz, 6H).

30 Intermedio 4. (\pm)-(trans)-4-hidroxibiciclo[4.1.0]heptano-2-carboxilato de metilo (racemato)35 Intermedio 5. (\pm)-(cis)-4-hidroxibiciclo[4.1.0]heptano-2-carboxilato de metilo (racemato)40 Intermedio 4A. *terc*-butil(ciclopent-3-en-1-iloxi)dimetilsilano

- 45 A una solución a TA de ciclopent-3-enol (10,0 g, 119 mmol) y TBSCl (17,92 g, 119 mmol) en DMF (30 ml) se le añadió imidazol (9,71 g, 143 mmol) en DMF (30 ml) gota a gota durante 2 h. La reacción se agitó a TA durante la noche, después se diluyó con Et₂O (formación de precipitado de color blanco). La mezcla se lavó con salmuera. La fase acuosa de color blanco se separó; la fase orgánica se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se concentró al vacío. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (80 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 20 % de EtOAc en hexano durante 15 min) para proporcionar el compuesto del título (21,0 g, 106 mmol, 89 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,66 (s, 2H), 4,53 (tt, *J* = 6,9, 3,6 Hz, 1H), 2,57 (dd, *J* = 15,1, 6,9 Hz, 2H), 2,36-2,19 (m, 2H), 0,89 (s, 9H), 0,06 (s, 6H).
- 50

Intermedio 4B. *terc*-butil((6,6-dibromobiciclo[3.1.0]hexan-3-il)oxi)dimetilsilano

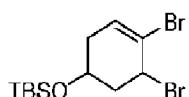


5 A una solución de 4A (10,0 g, 50,4 mmol) en benceno (50 ml) se le añadieron sucesivamente CHBr₃ (22,04 ml, 252 mmol) y PhCH₂(Et₃)NCl (0,574 g, 2,52 mmol). La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió NaOH acuoso (90 ml de una solución al 50 % p/v) gota a gota durante 10 min. La reacción se dejó calentar lentamente a 18 °C y se agitó vigorosamente a 18 °C durante 16 h. Después se añadieron CHBr₃ (22,04 ml, 252 mmol), PhCH₂(Et₃)NCl (0,574 g, 2,52 mmol) y NaOH acuoso (50 ml de una solución al 50 % p/v) adicionales y la mezcla se agitó vigorosamente a 18 °C durante 3 días. En este punto, el análisis por RMN ¹H reveló que todo el ciclopenteno de partida se había consumido. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml) y agua (1 l). La capa acuosa se extrajo con DCM (2 × 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 × 100 ml), se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color pardo oscuro. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (330 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 10 % de EtOAc en hexano durante 50 min) para proporcionar el compuesto del título (8,0 g, 21,6 mmol, 42,9 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 4,36 (tt, *J* = 6,8, 4,1 Hz, 1H), 2,35-2,29 (m, 2H), 2,13 (dd, *J* = 14,9, 6,9 Hz, 2H), 2,00-1,88 (m, 2H), 0,86 (s, 9H), 0,02 (s, 6H).

10

15

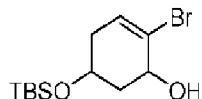
Intermedio 4C. (±)-*tert*-Butil((4,5-dibromocyclohex-3-en-1-il)oxi)dimetilsilano



20 Una solución de 4B (8,0 g, 21,6 mmol) en PhCl (50 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante 3 h, después se enfrió a TA y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto (8,0 g, 21,6 mmol, 100 % de rendimiento en bruto) que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 6,07 (dd, *J* = 5,6, 2,6 Hz, 1H), 4,80 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 4,41-4,33 (m, 1H), 2,51 (dtd, *J* = 17,9; 5,7; 1,5 Hz, 1H), 2,41-2,34 (m, 1H), 2,25-2,15 (m, 2H), 0,90 (s, 9H), 0,10 (d, *J* = 1,7 Hz, 6H); RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 132,1, 121,8, 63,2, 53,4, 42,5, 37,4, 25,8, 18,1, -4,7, -4,7.

25

Intermedio 4D. (±)-2-Bromo-5-((*tert*-butylidimethylsilyl)oxi)cyclohex-2-en-1-ol



30 Una mezcla de 4C (4,0 g, 10,8 mmol) y CaCO₃ (1,62 g, 16,2 mmol) en acetona (30 ml) y H₂O (60 ml) se calentó a reflujo durante 3 días, después se enfrió a TA. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se extrajo con Et₂O (3 × 10 ml); los extractos orgánicos combinados se lavaron con HCl 1M ac., se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (40 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 30 % de EtOAc en hexano durante 15 min) para proporcionar el compuesto del título (2,70 g, 8,79 mmol, 81 % de rendimiento) en forma de un aceite de color parduzco claro. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 6,13-5,99 (m, 1H), 4,38-4,22 (m, 1H), 4,18-4,06 (m, 1H), 2,43-1,90 (m, 5H), 0,89 (d, *J* = 3,3 Hz, 9H), 0,14-0,04 (m, 6H).

35

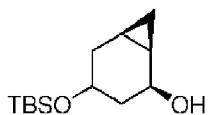
Intermedio 4E. (±)-5-((*tert*-butylidimethylsilyl)oxi)cyclohex-2-en-1-ol

40 Una mezcla de 4D (2,8 g, 9,11 mmol) en Et₂O anhídrico (30 ml) a -78 °C se le añadió t-BuLi (18,76 ml de una solución 1,7 M en pentano; 31,9 mmol) gota a gota durante 1 h. Una vez completada la adición, la mezcla de color amarillo transparente se agitó durante 1,5 h adicionales a -78 °C, después se dejó calentar hasta -20 °C durante 3 h. Despues, la reacción se interrumpió añadiendo NaHCO₃ ac. saturado (10 ml) y se agitó durante 1 h a TA. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y Et₂O (20 ml). La capa acuosa se extrajo con Et₂O (2 × 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (40 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 30 % de EtOAc en hexano durante 15 min) para proporcionar el compuesto del título (2,0 g, 8,76 mmol, 96 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 5,95-5,65 (m, 2H), 4,43-4,05 (m, 2H), 2,41-2,09 (m, 1H), 2,04-1,76 (m, 2H), 1,48 (d a, *J* = 5,3 Hz, 1H), 0,92-0,84 (m, 9H), 0,12-0,05 (m, 6H).

45

50

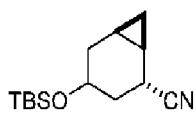
Intermedio 4F. (±)-4-((*tert*-butylidimethylsilyl)oxi)biciclo[4.1.0]heptan-2-ol



Se añadió dietilcinc (21,9 ml de una solución 1 M en hexano; 21,9 mmol) a una solución de 4E (2,0 g, 8,76 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C en atmósfera de N₂. Se añadió CH₂Li (1,41 ml, 17,5 mmol) lentamente; la mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0 °C, después se dejó calentar a TA y se agitó a TA durante 3 h. La mezcla de reacción se añadió a agua helada y se extrajo con DCM (10 ml × 3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con HCl al 10 % ac. y agua, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (24 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 50 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar el compuesto del título (1,90 g, 7,84 mmol, 90 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 4,60-4,23 (m, 1H), 3,93-3,52 (m, 1H), 2,19-1,57 (m, 3H), 1,43-0,94 (m, 4H), 0,88 (d, J = 3,0 Hz, 9H), 0,70-0,50 (m, 1H), 0,38-0,18 (m, 1H), 0,09-0,01 (m, 6H).

Intermedio 4G. (±)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxi)biciclo[4.1.0]heptano-2-carbonitrilo



15 A una mezcla a 0 °C de 4F (1,8 g, 7,42 mmol), cianhidrina de acetona (1,36 ml, 14,9 mmol) y (n-Bu)₃P (3,66 ml, 14,85 mmol) en THF (10 ml) se le añadió una solución de 1,1'-(azodicarbonil) dipiperidina (3,75 g, 14,9 mmol) en THF (50 ml) durante 2 h. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min, después se dejó calentar a TA y se agitó a TA durante 18 h. La mezcla de reacción se diluyó con Et₂O (20 ml) y se filtró; el filtrado se concentró al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (120 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 30 % de EtOAc en hexano durante 30 min) para proporcionar el compuesto del título (1,54 g, 6,12 mmol, 82 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,05-3,40 (m, 1H), 3,18-2,78 (m, 1H), 2,17-1,86 (m, 1H), 1,84-1,51 (m, 3H), 1,32-0,94 (m, 2H), 0,92-0,84 (m, 9H), 0,84-0,71 (m, 1H), 0,43-0,06 (m, 7H).

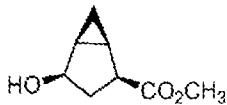
25 Intermedio 4 e Intermedio 5

30 Se añadió cloruro de acetilo (21,8 ml, 306 mmol) muy lentamente a MeOH (100 ml) a 0 °C y la solución resultante se agitó durante 10 min a 0 °C. Después se añadió una solución de 4G (1,54 g, 6,12 mmol) en MeOH seco (5 ml) en una sola porción a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a TA y se agitó a TA durante 2 días, después se concentró al vacío. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (40 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 40 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar los dos diastereómeros 4 (63 mg, 0,370 mmol, rendimiento del 6,0 %) y 5 (15 mg, 0,088 mmol, 1,4 % de rendimiento) en forma de aceites transparentes.

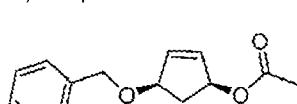
35 Intermedio 4: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (dtd, J = 11,5, 6,2, 3,1 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,00 (td, J = 5,6, 1,7 Hz, 1H), 2,23 (dddd, J = 14,1, 8,1, 6,3, 1,4 Hz, 1H), 1,86 (dddd, J = 13,4, 5,0, 3,2, 1,5 Hz, 1H), 1,71 (s a, 1H), 1,51-1,38 (m, 2H), 1,28-1,15 (m, 1H), 1,03-0,90 (m, 1H), 0,72 (td, J = 9,1, 4,6 Hz, 1H), 0,21 (c, J = 5,4 Hz, 1H).

40 Intermedio 5: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,97-3,87 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,26 (dt, J = 9,9, 6,2 Hz, 1H), 1,98-1,87 (m, 1H), 1,80-1,64 (m, 3H), 1,50 (ddd, J = 13,8, 10,0, 2,0 Hz, 1H), 1,31-1,21 (m, 1H), 1,03 (cdd, J = 8,4, 5,8, 2,1 Hz, 1H), 0,64 (td, J = 8,9, 5,3 Hz, 1H), 0,11 (c, J = 5,3 Hz, 1H).

Intermedio 6. (1R,2S,4R,SS)-4-Hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-2-carboxilato de metilo (quiral)



45 Intermedio 6A. acetato de (1S,4R)-4-(benciloxi)ciclopent-2-en-1-ilo

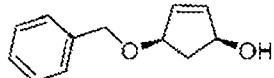


50 A una solución a TA de acetato de (1S,4R)-4-hidroxiciclopent-2-en-1-ilo (5,00 g, 35,2 mmol) en DCM anhídrido (20 ml) en atmósfera de N₂ se le añadió lentamente bromuro de bencilo (4,18 ml, 35,2 mmol), seguido de Ag₂O (9,78 g, 42,2 mmol), que se añadió lentamente durante 30 min. La reacción se agitó en la oscuridad, en atmósfera de N₂, a TA durante 7 días, después se filtró. La torta de filtro se lavó con DCM (2 x 15 ml). Los filtrados combinados se concentraron al vacío. El aceite residual en bruto se sometió a cromatografía (columna de SiO₂ de 40 g; gradiente

continuo del 0-50 % de EtOAc en hexano durante 17 min) para proporcionar el compuesto del título (3,90 g, 16,8 mmol, 47,7 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro. $[M+Na]^+ = 255,3$; RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41-7,30 (m, 5H), 6,16 (dt, $J = 5,6, 1,6$ Hz, 1H), 6,03 (dt, $J = 5,6, 1,4$ Hz, 1H), 5,59-5,49 (m, 1H), 4,66-4,51 (m, 3H), 2,80 (dt, $J = 14,4, 7,4$ Hz, 1H), 2,08 (s, 3H), 1,80 (dt, $J = 14,3, 4,4$ Hz, 1H); $[\alpha]^{20} D = 2,81^\circ$ (c 1,0, DCM).

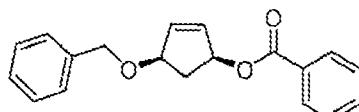
5

Intermedio 6B. (1S,4R)-4-(benciloxi)ciclopent-2-en-1-ol



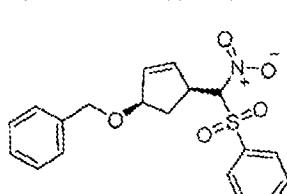
- 10 Una solución de 6A (0,700 g, 3,01 mmol) y NaOH ac. 1 M (3,01 ml, 3,01 mmol) en MeOH (2 ml)/THF (5 ml) se agitó durante 18 h a TA y después se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con DCM. (2 \times 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (0,56 g, 2,94 mmol, 98 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro. RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,37 (d, $J = 4,2$ Hz, 5H), 6,18-5,98 (m, 2H), 4,78-4,53 (m, 3H), 4,53-4,39 (m, 1H), 2,70 (dt, $J = 14,1, 7,0$ Hz, 1H), 1,83-1,62 (m, 2H); $[\alpha]^{20} D = -26$ (1,1 % p/v, DCM).
- 15

Intermedio 6C. benzoato de (1S,4R)-4-(benciloxi)ciclopent-2-en-1-ilo



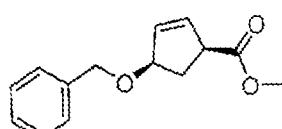
- 20 Se añadió cloruro de benzoilo (0,940 ml, 8,09 mmol) gota a gota a una solución de 6B (1,40 g, 7,36 mmol), Et_3N (1,23 ml, 8,83 mmol) y DMAP (45 mg, 0,368 mmol) en CH_2Cl_2 (5 ml) durante 1 h. La reacción se agitó a TA durante la noche, después se interrumpió con $NaHCO_3$ ac. saturado (5,0 ml) y se extrajo con Et_2O (2 \times 15 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron al vacío. El aceite residual en bruto se sometió a cromatografía (40 g de SiO_2 ; gradiente continuo del 0-50 % de EtOAc en hexano durante 17 min) para proporcionar el compuesto del título (1,60 g, 5,44 mmol, 73,9 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. $[M+Na]^+ = 317,3$; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,14-8,01 (m, 2H), 7,61-7,55 (m, 1H), 7,49-7,30 (m, 7H), 6,26-6,19 (m, 1H), 6,15 (dt, $J = 5,6, 1,5$ Hz, 1H), 5,86-5,75 (m, 1H), 4,69-4,53 (m, 3H), 2,94 (dt, $J = 14,4, 7,2$ Hz, 1H), 1,96 (dt, $J = 14,3, 4,5$ Hz, 1H); $[\alpha]^{20} D = +75,4$ (1,1 % p/v, DCM).
- 25

30 Intermedio 6D. (((R)-((1S,4R)-4-(benciloxi)ciclopent-2-en-1-il)(nitro)metil)sulfonil)benceno



- 35 A una solución desgasificada de Ph_3P (0,057 g, 0,217 mmol) en THF (5 ml) se le añadió $Pd_2(dbu)_3\cdot CHCl_3$ (28 mg, 0,027 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 15 min. Esta solución de catalizador se añadió a una solución desgasificada de 6C (1,60 g, 5,44 mmol), ((nitrometil)sulfonil)benceno (1,31 g, 6,52 mmol) y Et_3N (1,82 ml, 13,1 mmol) en THF (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h, después se concentró al vacío. El residuo se recogió en EtOAc (20 ml) y se lavó con HCl ac. 0,2 M (30 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (10 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (80 g de SiO_2 ; gradiente continuo del 0-30 % de EtOAc en hexano durante 20 min) para proporcionar el compuesto del título (1,68 g, 4,50 mmol, 83 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. $[M - H]^+ = 372,1$.
- 40

45 Intermedio 6E. (1S,4R)-4-(benciloxi)ciclopent-2-eno-1-carboxilato de metilo

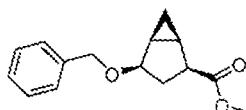


- 50 A una solución a 0 °C de 6D (1,68 g, 4,50 mmol) en MeOH (45 ml) y DCM (60 ml) se le añadió 1,1,3,3-tetrametilguanidina (0,756 ml, 6,03 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 15 min seguido de la adición de sal triple de persulfato de tetrabutilamonio (Oxone®, 41,1 g, 25,2 mmol), Na_2CO_3 (2,67 g, 25,2 mmol). La reacción se agitó a TA

durante 16 h; se añadió CHCl₃ (100 ml) y la capa orgánica se lavó con agua (100 ml). La capa acuosa se volvió a extraer con más CHCl₃ (30 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (12 g de SiO₂; gradiente continuo del 0-50 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar el compuesto del título (0,56 g, 2,41 mmol, 53,6 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,40-7,34 (m, 4H), 7,32-7,27 (m, 1H), 6,04-5,98 (m, 2H), 4,68 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 4,64-4,53 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,52-3,47 (m, 1H), 2,56 (dt, J = 13,7, 8,0 Hz, 1H), 2,17 (dt, J = 13,8, 5,9 Hz, 1H); [α]²⁰ D +35 ° (c 0,75, DCM).

Intermedio 6F. (1R,2S,4R,SS)-4-(benciloxi)biciclo[3.1.0]hexano-2-carboxilato de metilo

10



A una solución a 0 °C de Et₂Zn 1,0 M en hexano (8,61 ml, 8,61 mmol) en CH₂Cl₂ anhídrico (30 ml) se le añadió gota a gota TFA (0,663 ml, 8,61 mmol), seguido de la adición gota a gota de CH₂I₂ (0,695 ml, 8,61 mmol) a 0 °C. Despues, la mezcla de reacción se agitó durante 15 min a 0 °C; se añadió gota a gota a 0 °C una solución de 6E (0,500 g, 2,15 mmol) en CH₂Cl₂ anhídrico (10 ml). La solución de reacción se dejó calentar lentamente a TA y se agitó a TA durante 16 h, despues se añadió agua helada (100 ml). La mezcla se extrajo con DCM (5 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (40 g de SiO₂; gradiente continuo del 0-100 % de EtOAc en hexano durante 15 min) para proporcionar el compuesto del título (0,201 g, 0,816 mmol, 37,7 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. [α]²⁰ D = +20° (c 1,0, CDCl₃); [M+Na]⁺ = 269,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,42-7,25 (m, 5H), 4,68-4,46 (m, 2H), 4,38-4,18 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,07-2,87 (m, 1H), 2,08 (dt, J = 13,5, 7,9 Hz, 1H), 1,66-1,50 (m, 3H), 1,03-0,82 (m, 1H), 0,57-0,38 (m, 1H).

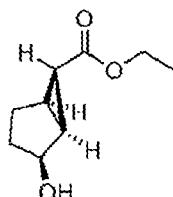
Intermedio 6

25

Una mezcla de 6F (201 mg, 0,816 mmol) y Pd/C al 10 % (43,4 mg, 0,041 mmol) en MeOH (5 ml) se agitó en una atmósfera de H₂ a TA durante 2 h; despues, la sal se separó por filtración. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (126 mg, 0,807 mmol, 99 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. [α]²⁰ D: 38,5° (c 0,56, CH₂Cl₂); RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 4,58 (td, J = 8,3, 4,5 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,05-2,99 (m, 1H), 2,10 (dt, J = 13,6, 7,9 Hz, 1H), 1,69-1,55 (m, 3H), 1,55-1,42 (m, 1H), 0,87 (c, J = 3,9 Hz, 1H), 0,49 (c, J = 7,7 Hz, 1H).

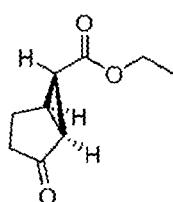
Intermedio 7. (±)-(1S,2S,SR)-2-Hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (racemato)

35



Intermedio 7A. (±)-(1S,SR)-2-Oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (racemato)

40



A una suspensión a TA de bromuro de (etoxicarbonilmetil)dimetilsulfonio (6,70 g, 29,2 mmol) en MeCN (24,4 ml) se le añadió 1,1,3,3-tetrametilguanidina (3,67 ml, 29,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 10 min a TA, despues se añadió ciclopent-2-enona (2,0 g, 24,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche, despues se vertió en Et₂O (200 ml). El sólido de color blanco (sal de HBr de tetrametilguanidino) se separó por filtración. El filtrado se lavó con agua y salmuera, se secó (Na₂SO₄), se concentró al vacío y se sometió a cromatografía (40 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 al 100 % de EtOAc en hexano durante 50 min a 15 ml/min) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite (3,72 g, 22,1 mmol, 91 % de rendimiento).

Intermedio 7

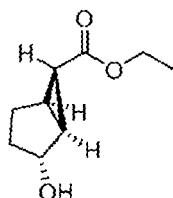
50

A una solución a 0 °C del Intermedio 7A (3,72 g, 22,1 mmol) en MeOH (2 ml) se le añadió NaBH₄ (1,26 g, 33,2 mmol)

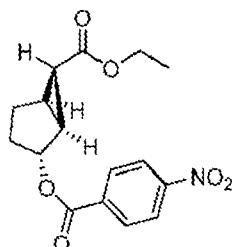
en porciones. La reacción se agitó a 0 °C durante 2 h, se dejó calentar a TA y se agitó durante la noche a TA. La reacción se interrumpió con MeOH (1 ml) y se concentró al vacío. El residuo se neutralizó con HCl ac. 1 N y se repartió entre salmuera y EtOAc (20 ml cada uno). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 5 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron al vacío. El producto en bruto se sometió

5 a cromatografía (40 g de SiO_2 ; gradiente continuo del 0 % al 50 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar el compuesto del título (2,84 g, 15,9 mmol, 71,7 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ^1H (CDCl_3) δ : 4,04-4,20 (m, 2H), 2,03-2,15 (m, 1H), 1,76-2,00 (m, 5H), 1,53-1,68 (m, 1H), 1,26 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,96-1,13 (m, 1H); referencia para la estereoquímica del Intermedio 6: C. Jimeno *et al.*, *ChemMedChem* 2011, 6, 1792-1795.

10 Intermedio 8. (\pm)-(1S,2R,SR)-2-Hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (racemato)



15 Intermedio 8A. (\pm)-(1S,2R,SR)-2-((4-nitrobenzoyl)oxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo

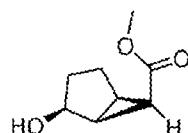


20 A una solución de ácido 4-nitrobenzoico (1,59 g, 9,52 mmol), intermedio 7 (0,81 g, 4,76 mmol) y $\text{Ph}_3\text{A P}$ (2,50 g, 9,52 mmol) en THF (10 ml) se le añadió DIAD (1,85 ml, 9,52 mmol) a TA. La reacción se agitó a TA durante la noche, después se concentró al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía (80 g de SiO_2 , gradiente continuo del 0 al 100 % de EtOAc en hexano durante 50 min a 40 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (1,20 g, 3,19 mmol, 67,1 % de rendimiento).

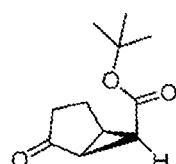
25 Intermedio 8

A una solución del Intermedio 8A (1,09 g, 3,41 mmol) en THF (17,1 ml) se le añadieron MeOH (1 ml) y LiOH ac. 4 M (0,85 ml, 3,41 mmol). La reacción se agitó a TA durante 5 h, después se acidificó a pH 3 con HCl 1N ac., se concentró parcialmente al vacío y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía (24 g de SiO_2 ; gradiente continuo del 0 al 100 % de EtOAc en hexano durante 30 min a 18 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (0,30 g, 1,67 mmol, 49,1 % de rendimiento). RMN ^1H (CDCl_3) δ : 4,35 (d a, J = 5,0 Hz, 1H), 4,14 (c, J = 7,1 Hz, 2H), 1,97-2,16 (m, 3H), 1,84 (dd, J = 12,9, 8,0 Hz, 1H), 1,65 (dd, J = 14,9, 8,3 Hz, 1H), 1,58 (s, 1H), 1,21-1,43 (m, 5H), $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 470,2.

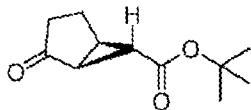
35 Intermedio 9. (\pm)-(1S,2S,5R,6R)-2-Hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de metilo (racemato)



40 Intermedio 9A. (\pm)-(1S,SR,6R)-2-Oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de *tert*-butilo (racemato)



Intermedio 9B. (\pm)-(1S,SR,6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de *terc*-butilo (racemato)

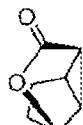


5 Una mezcla de ciclopent-2-en-1-ona (1,32 g, 16,0 mmol) y 2-(tetrahidro-1*H*-tiofen-1-ilideno)acetato de *terc*-butilo (2,70 g, 13,4 mmol) en tolueno (26,7 ml) se agitó a TA durante 4 días, después se concentró al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (80 g de SiO₂, gradiente continuo del 0 al 50 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar el Intermedio 9A (0,90 g, 4,59 mmol, 34,4 % de rendimiento) y el Intermedio 9B (0,45 g, 2,293 mmol, 17,2 % de rendimiento) en forma de aceites transparentes.

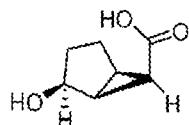
10 Intermedio 9A: $[M+H]^+ = 197,1$; RMN 1H (500 MHz, CDCl₃) δ 2,48 (td, $J = 5,2, 3,6$ Hz, 1H), 2,28-2,20 (m, 2H), 2,19-1,99 (m, 3H), 1,95 (dd, $J = 3,3, 2,5$ Hz, 1H), 1,47 (s, 9H).

15 Intermedio 9B: $[M+Na]^+ = 197,1$; RMN 1H (500 MHz, CDCl₃) δ 2,44-2,25 (m, 4H), 2,25-2,20 (m, 1H), 2,19-2,14 (m, 1H), 2,11-2,05 (m, 1H), 1,48 (s, 9H).

Intermedio 9C. (\pm)-(2*b*R,4a*S*)-hexahidro-3*H*-4-oxaciclopropa[cd]pentalen-3-ona (racemato)



20 Intermedio 9D. ácido (\pm)-(1*S*,2*S*,5*R*,6*R*)-2-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico (racemato)



25 A una solución a 0 °C del Intermedio 9A (0,93 g, 4,74 mmol) en MeOH (2 ml) se le añadió NaBH₄ (0,269 g, 7,11 mmol) en porciones. La reacción se agitó a 0 °C durante 3 h, después se interrumpió con agua (1 ml). Los compuestos volátiles se retiraron al vacío. El residuo se neutralizó con HCl 3N ac.; se añadió salmuera y la mezcla se extrajo con EtOAc (30 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2x30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (24 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 100 % de EtOAc en hexano durante 40 min para proporcionar el Intermedio 9C (0,38 g, 3,06 mmol, 64,6 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco y el Intermedio 9D (0,06 g, 0,422 mmol, 8,9 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente.

35 Intermedio 9C: RMN 1H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,02 (d a, $J = 3,0$ Hz, 1H), 2,29-2,16 (m, 2H), 2,13-2,05 (m, 2H), 1,94 (dtd, $J = 12,8; 10,0; 2,8$ Hz, 1H), 1,83-1,75 (m, 1H), 1,54-1,46 (m, 1H).

Intermedio 9D: $[M+H]^+ = 143,1$; RMN 1H (500 MHz, CDCl₃) δ 4,81 (td, $J = 8,5, 5,4$ Hz, 1H), 2,27-2,12 (m, 1H), 2,06-1,81 (m, 6H), 1,47-1,31 (m, 2H).

40 Intermedio 9 (racemato)

A una solución a TA del Intermedio 9D (60 mg, 0,42 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) y MeOH (0,20 ml) se le añadió gota a gota TMSCHN₂ (0,317 ml de una solución 2 M en hexanos, 0,633 mmol) hasta que la solución de reacción permaneció de color amarillo. La reacción se agitó a TA durante 15 min, después se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto (66 mg, 0,423 mmol, 100 % de rendimiento) en forma de un aceite. El Intermedio 9 se usó en reacciones posteriores sin purificación adicional. $[M+H]^+ = 157,2$.

Intermedio 10. 3-Hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo

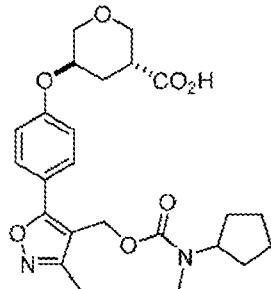


50 A una solución de 3-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (250 mg, 1,49 mmol) en THF (10 ml)/MeOH (5 ml) se le añadió NaBH₄ (56 mg, 1,49 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 18 h, después se diluyó con EtOAc (10 ml) y agua (15 ml). Las capas se separaron; la fase orgánica se lavó con agua (15 ml), salmuera (15 ml),

se secó ($MgSO_4$) y se concentró al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía (SiO_2 ; gradiente continuo de 0 % a 100 % de EtOAc en hexanos durante 20 min) para proporcionar dos isómeros. El compuesto del título (120 mg, 0,71 mmol, 48 % de rendimiento) fue el primer isómero en eluir. RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,39 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 4,10 (c, J = 7,3 Hz, 2H), 2,22-2,09 (m, 2H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,92-1,82 (m, 4H), 1,25 (t, J = 7,2 Hz, 4H). El segundo isómero (110 mg, 0,55 mmol, 37 % de rendimiento) en eluir no era lo suficientemente puro para su uso posterior.

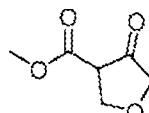
Ejemplo 1. ácido (\pm)-trans-5-(4-((4-((ciclopentil(metil)carbamoyl)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-pirano-3-carboxílico

10



1A. 4-oxotetrahidrofuran-3-carboxilato de metilo

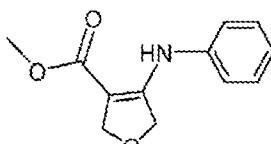
15



A una suspensión de NaH al 60 % en aceite (8,99 g, 225 mmol) en Et_2O seco (200 ml) a temperatura ambiente se le añadió glicolato de metilo (15,54 ml, 204 mmol) gota a gota. La reacción se agitó a TA durante 14 h, después se concentró al vacío. Al sólido residual se le añadió una solución de acrilato de metilo (20,4 ml, 225 mmol) en DMSO (200 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó durante 15 min a 0 °C, después se dejó calentar a TA y se agitó a TA durante 45 min. La mezcla se vertió en H_2SO_4 ac. al 5 % (500 ml) y se extrajo con Et_2O (300 ml). La capa orgánica se secó (Na_2SO_4) y se concentró al vacío. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (220 g de SiO_2 ; gradiente continuo del 0 % al 40 % de EtOAc en hexano durante 40 min) para proporcionar el compuesto del título (14 g, 97 mmol, 47,6 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. $[M+Na]^+ = 145,3$; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,59-4,41 (m, 2H), 4,06-3,88 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,55 (t, J = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$) δ 207,2, 166,7, 70,4, 69,1, 52,9, 52,5.

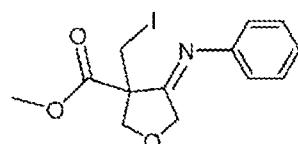
1B. 4-(fenilamino)-2,5-dihidrofuran-3-carboxilato de metilo

30



Una solución del Ejemplo 1A (14,0 g, 97 mmol), anilina (10,64 ml, 117 mmol) y p-TsOH (1,85 g, 9,71 mmol) en 150 ml de benceno se calentó a reflujo durante 24 h (retirando el agua generada usando un extractor Soxhlet que contenía CaH), después se enfrió a TA y se concentró al vacío. El producto oleoso de color pardo se sometió a cromatografía (SiO_2 ; columna de 3,81 cm (1,5") \times 15,24 cm (6"), elución isocrática con 6:1:0,1 % de hexanos:EtOAc:iPr₂ para proporcionar el compuesto del título (17,3 g, 79 mmol, 81 % de rendimiento) en forma de un sólido de color naranja. $[M+H]^+ = 220,3$; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,10 (s a, 1H), 7,35-7,27 (m, 2H), 7,13-7,03 (m, 1H), 6,98-6,88 (m, 2H), 4,95 (t, J = 3,0 Hz, 2H), 4,83-4,77 (m, 2H), 3,76 (s, 3H).

40 1C. 3-(yodometil)-4-(fenilimino)tetrahidrofuran-3-carboxilato de metilo

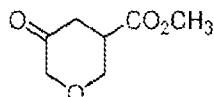


A una suspensión de KOtBu (10,6 g, 95 mmol) en 100 ml de benceno seco a TA en atmósfera de Ar, se le añadió

rápidamente gota a gota una solución del Ejemplo 1B (17,3 g, 79 mmol) y 18-corona-6 (25,0 g, 95 mmol) en benceno (150 ml), durante 5 min. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 0,5 h, después de lo cual se añadió CH₂I₂ (19,2 ml, 237 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h, después se vertió en Et₂O (1 l), se lavó con Na₂S₂O₃ ac. al 5 % (3 × 100 ml) y salmuera (5 × 200 ml). La fase orgánica se secó (K₂CO₃) y se concentró al vacío.

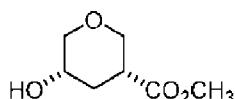
- 5 El producto oleoso de color parduzco en bruto se sometió a cromatografía (220 g de SiO₂; elución isocrática con 6:1:0,5 % de hexanos:EtOAc: iPr₂NEt) para proporcionar el compuesto del título (3,20 g, 8,91 mmol, 11,3 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. [M+H]⁺ = 360,2; RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 173,8, 169,2, 149,7, 129,2, 125,2, 119,0, 76,3, 68,0, 58,2, 53,4, 6,2; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,35-7,30 (m, 2H), 7,16-7,11 (m, 1H), 6,83-6,79 (m, 2H), 4,60 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,32-4,13 (m, 3H), 3,86 (s, 3H), 3,80 (dd, J = 10,2, 0,6 Hz, 1H), 3,62 (d, J = 10,2 Hz, 1H).
- 10

1D. 5-oxotetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo



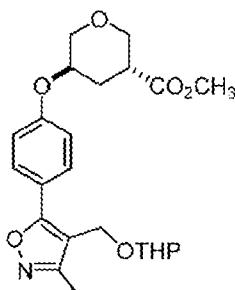
- 15 Una solución de n-Bu₃SnH (2,57 ml, 9,61 mmol) y AIBN (0,210 g, 1,281 mmol) en benceno (20 ml) se añadió gota a gota a una solución a reflujo del Ejemplo 1C (2,30 g, 6,40 mmol) en benceno (100 ml) durante 3 h en atmósfera de Ar. Después de la finalización de la adición, la reacción se calentó a reflujo durante otras 2 h, después se enfrió a TA y se concentró al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (80 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 50 % de EtOAc/hexano durante 20 min) para proporcionar el compuesto del título (0,49 g, 3,10 mmol, 48,4 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,14-3,96 (m, 4H), 3,75 (s, 3H), 3,26-3,13 (m, 1H), 2,90-2,78 (m, 1H), 2,74-2,64 (m, 1H); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 205,0, 172,2, 74,7, 67,3, 52,4, 41,3, 39,2.
- 20

25 1E. (±)-cis-5-hidroxitetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo



- 30 A una solución a 0 °C del Ejemplo 1D (190 mg, 1,201 mmol) en MeOH (2 ml) se le añadió en porciones NaBH₄ (54,5 mg, 1,442 mmol). La solución se agitó a 0 °C durante 3 h, después se interrumpió con agua (0,1 ml). El disolvente se retiró al vacío. El residuo se neutralizó con HOAc; se añadieron agua y t-BuOMe. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con t-BuOMe (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (4 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 50 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar el compuesto del título (122 mg, 0,762 mmol, 63,4 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 3,93 (ddd, J = 11,5, 4,2, 1,1 Hz, 1H), 3,82 (ddd, J = 11,3, 3,9, 1,4 Hz, 1H), 3,76-3,70 (m, 4H), 3,63-3,56 (m, 1H), 3,49-3,20 (m, 2H), 2,74-2,66 (m, 1H), 2,31-2,23 (m, 1H), 1,78 (dt, J = 13,1, 8,8 Hz, 1H).
- 35

40 1F. (±)-trans-5-(4-(3-metil-4-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)isoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo

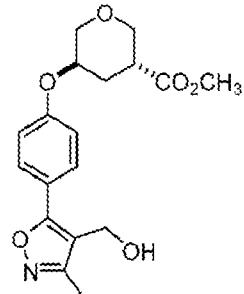


- 45 Una solución de azodicarboxilato de di-*terc*-butilo (210 mg, 0,914 mmol) en THF (2 ml) se añadió gota a gota a una solución del Ejemplo 1E (122 mg, 0,762 mmol), el Intermedio 1C (264 mg, 0,914 mmol), Ph₃P (240 mg, 0,914 mmol) y Et₃N (159 μ l, 1,14 mmol) en THF (2 ml) a 0 °C durante 10 min. La reacción se dejó calentar a TA y se agitó a TA durante 18 h, después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre HCl ac. 1N y EtOAc (10 ml cada uno). La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (24 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 50 % de EtOAc/hexano durante 12 min) para proporcionar el compuesto del título (100 mg, 0,232 mmol, 30,4 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo claro. [M+H]⁺ = 432,4; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,77 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,04 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,74-4,54 (m, 5H), 4,02 (dd, J =
- 50

11,6, 3,9 Hz, 1H), 3,94-3,70 (m, 6H), 3,59-3,48 (m, 1H), 3,05 (tt, J = 8,3, 4,3 Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,28-2,14 (m, 2H), 1,93-1,48 (m, 6H).

1G. (\pm)-trans-5-(4-(4-(Hidroximetil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo

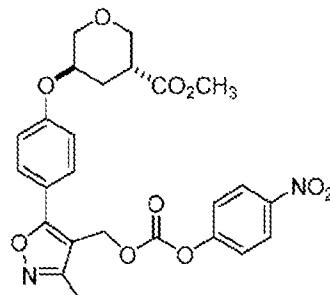
5



Una mezcla del Ejemplo 1F (100 mg, 0,232 mmol) y PPTS (5,8 mg, 0,023 mmol) en MeOH (2 ml) se agitó a 60 °C durante 5 h, después se enfrió a TA y se concentró al vacío. El aceite en bruto residual se purificó mediante HPLC

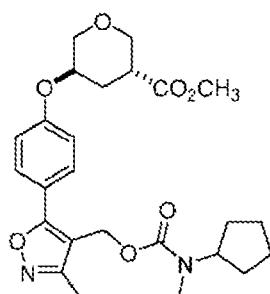
10 preparativa (columna Phenomenex Axia 5u C18 30x 100 mm; detección a 220 nm; caudal = 40 ml/min; gradiente continuo del 30 % de B al 100 % de B durante 10 min + 2 min de retención al 100 % de B, donde A = 90:10:0,1 de H₂O:MeOH:TFA y B = 90:10:0,1 de MeOH:H₂O:TFA) para proporcionar el compuesto del título racémico (75 mg, 0,216 mmol, 93 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. $[M+H]^+$ = 348,05; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,71 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,02 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 4,66 (s, 2H), 4,62-4,55 (m, 1H), 4,05 (dd, J = 11,4, 4,0 Hz, 1H), 3,93-3,85 (m, 1H), 3,83-3,75 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,12-3,01 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,25-2,19 (m, 2H).

15 1H. (\pm)-trans-5-(4-(4-(Clorometil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo



20 Una solución de cloroformiato de 4-nitrofenilo (87 mg, 0,432 mmol) en CH₂Cl₂ (0,5 ml) se añadió a una solución del Ejemplo 1G (75 mg, 0,216 mmol) e iPr₂NEt (0,151 ml, 0,864 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 días, después se concentró al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (12 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 30 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar el compuesto del título racémico (23 mg, 0,045 mmol, 20,8 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillento claro. $[M+H]^+$ = 513,3; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,29 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 7,74 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,40 (d, J = 9,4 Hz, 2H), 7,09 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,68-4,59 (m, 1H), 4,04 (dd, J = 11,4, 3,7 Hz, 1H), 3,92-3,78 (m, 4H), 3,74 (s, 3H), 3,07 (tt, J = 8,3, 4,1 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,32-2,16 (m, 3H).

25 30 1I. (\pm)-trans-5-(4-(4-((Ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo



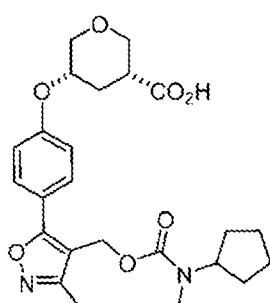
35 Una mezcla del Ejemplo 1H (23 g, 0,045 mmol), N-metilciclopentanamina (8,90 mg, 0,090 mmol) y iPr₂NEt (0,024 ml, 0,135 mmol) en THF (1 ml) se agitó a TA durante 3 h, después se repartió entre EtOAc y HCl ac. 1 N. La capa orgánica

se lavó con agua, NaHCO₃ ac. saturado, agua y después se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título racémico en bruto (20 mg, 0,042 mmol, 94 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. [M+H]⁺ = 473,4

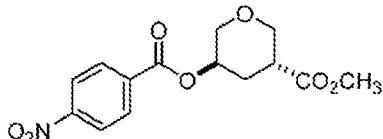
Ejemplo 1

Una solución del Ejemplo 11 (20 mg, 0,042 mmol) y una solución acuosa de LiOH 2 M (0,212 ml, 0,423 mmol) en THF (1 ml)/MeOH (0,2 ml) se agitó a TA durante 3 h, después se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (columna Phenomenex Axia 5 u C18 30 × 100 mm; detección a 220 nm; caudal = 40 ml/min; gradiente continuo del 30 % de B al 100 % de B durante 10 min + 2 min de retención al 100 % de B, donde A = 90:10:0,1 de H₂O:MeOH:TFA y B = 90:10:0,1 de MeOH:H₂O:TFA) para proporcionar el compuesto del título (8 mg, 0,017 mmol, 40,4 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. [M+H]⁺ = 459,4; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,72 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 7,04 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,10 (s, 2H), 4,70-4,24 (m, 2H), 4,05 (dd, J = 11,6, 3,9 Hz, 1H), 3,90-3,78 (m, 3H), 3,11 (tt, J = 8,0, 4,2 Hz, 1H), 2,77 (s a, 3H), 2,40 (s, 3H), 2,32-2,18 (m, 2H), 1,91-1,42 (m, 8H). Cl₅₀ de hLPA₁ = 140 nM.

Ejemplo 2. ácido (±)-cis-5-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxílico

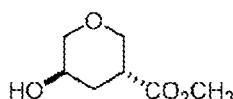


2A. (±)-trans-5-((4-nitrobenzoil)oxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo



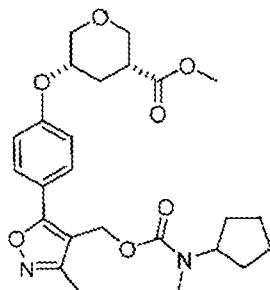
A una mezcla del Ejemplo 1E (200 g, 1,25 mmol), ácido 4-nitrobenzoico (313 mg, 1,87 mmol) y Ph₃P (491 mg, 1,87 mmol) en THF (5 ml) se le añadió DEAD (0,85 ml, 1,87 mmol) lentamente en porciones a TA durante 10 min. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a TA, después se concentró al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (4 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 50 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar el compuesto del título (242 mg, 0,782 mmol, 62,7 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. [M+Na]⁺ = 332,1; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,32-8,27 (m, 2H), 8,27-8,22 (m, 2H), 4,32 (c, J = 7,2 Hz, 1H), 4,21-4,15 (m, 1H), 4,03 (dt, J = 12,7, 2,4 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,68 (dd, J = 12,7, 1,9 Hz, 1H), 3,61 (dd, J = 11,3, 10,2 Hz, 1H), 3,13-3,04 (m, 1H), 2,41-2,32 (m, 1H), 2,13 (ddd, J = 14,4, 11,4, 3,3 Hz, 1H)

2B. (±)-trans-5-hidroxitetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo



Una mezcla de Ejemplo 2A (242 mg, 0,782 mmol) y K₂CO₃ (108 mg, 0,782 mmol) en MeOH (5 ml) se agitó a TA durante 2 h, después se concentró parcialmente al vacío. Se añadió CH₂Cl₂ (10 ml) y los sólidos residuales se separaron por filtración. El filtrado se concentró al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (12 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 50 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar el compuesto del título (51 mg, 0,318 mmol, 40,7 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 4,00 (ddd, J = 11,5, 4,2, 1,1 Hz, 1H), 3,92 (s a, 1H), 3,73-3,66 (m, 4H), 3,65-3,55 (m, 2H), 3,05-2,96 (m, 1H), 2,55 (d, J = 4,7 Hz, 1H), 2,11-1,94 (m, 2H).

2C. (±)-cis-5-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxilato de metilo



A una solución del Ejemplo 2B (53 mg, 0,333 mmol) y del Intermedio 1 (100 mg, 0,303 mmol) en tolueno (2 ml) se le añadieron sucesivamente n-Bu₃P (0,112 ml, 0,454 mmol) y 1,1'-(azodicarbonil)dipiperidina (115 mg, 0,454 mmol). La

mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 6 h, después se enfrió a TA y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (10 ml) y los sólidos resultantes se separaron por filtración. El filtrado se concentró al vacío. El producto oleoso en bruto se sometió a cromatografía (12 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 % al 30 % de EtOAc en hexano durante 10 min) para proporcionar una mezcla que se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (columna Phenomenex Axia 5u C18 30 × 100 mm; detección a 220 nm; caudal = 40 ml/min; gradiente continuo del 50 % de B al 100 % de B durante 10 min + 2 min de retención al 100 % de B, donde A = 90:10:0,1 de H₂O:MeOH:TFA y B = 90:10:0,1 de MeOH:H₂O:TFA) para proporcionar el compuesto del título racémico (24 mg, 0,051 mmol, 16,8 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. [M+H]⁺ = 473,5.

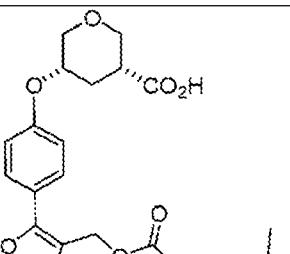
Ejemplo 2

Una mezcla del Ejemplo 2C (24 mg, 0,051 mmol) y LiOH ac. 1,0 M (0,25 ml, 0,51 mmol) en THF (1 ml)/MeOH (0,1 ml) se agitó a TA durante 3 h, después se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna Phenomenex Axia 5 u C18 30 × 100 mm; detección a 220 nm; caudal = 40 ml/min; gradiente continuo del 30 % de B al 100 % de B durante 10 min + 2 min de retención al 100 % de B, donde A = 90:10:0,1 de H₂O:MeOH:TFA y B = 90:10:0,1 de MeOH:H₂O:TFA) para proporcionar el compuesto del título racémico (22 mg, 0,047 mmol, 93 % de rendimiento) en forma de un aceite transparente. [M+H]⁺ = 459,3; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,70 (s a, 1H), 7,70 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,01 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 5,10 (s, 2H), 4,46 (tt, J = 8,9, 4,2 Hz, 2H), 4,16-4,06 (m, 2H), 3,65 (dd, J = 11,6, 9,4 Hz, 1H), 3,45 (dd, J = 11,2, 8,6 Hz, 1H), 2,91-2,69 (m, 4H), 2,63-2,48 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,05-1,93 (m, 1H), 1,87-1,43 (m, 8H). Cl₅₀ de hLPA₁ = 145 nM.

Los ejemplos de la siguiente tabla se sintetizaron de acuerdo con los procedimientos descritos para la preparación de los Ejemplos 1 y 2.

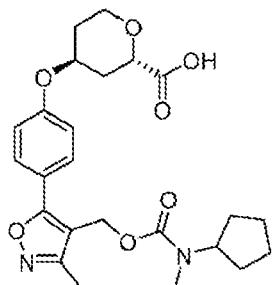
N.º de Ej.	Estructura y nombre	Datos analíticos y biológicos	Método
3	<p>ácido (±)-trans-5-(4-((isopentil (metil)carbamoil)oxi)methyl)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi tetrahidro-2H-piran-3-carboxílico</p>	<p>[M+H]⁺ = 461,3; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 9,81 (s a, 1H), 7,72 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,04 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,10 (s, 2H), 4,61 (s a, 1H), 4,05 (dd, J = 11,4, 3,7 Hz, 1H), 3,90-3,78 (m, 3H), 3,35-3,15 (m, 2H), 3,14-3,06 (m, 1H), 2,95-2,81 (m, 3H), 2,40 (s, 3H), 2,33-2,17 (m, 2H), 1,64-1,29 (m, 3H), 0,99-0,74 (m, 6H); Cl₅₀ de hLPA₁ = 218 nM.</p>	Ejemplo 1

(continuación)

N.º de Ej.	Estructura y nombre	Datos analíticos y biológicos	Método
4	 <p>ácido (\pm)-cis-5-(4-((4-isopentylcarbamoyl)oxy)methyl)-3-methylisoxazol-5-yl)phenoxyl tetrahydro-2H-piran-3-carboxylico</p>	<p>$[M+H]^+ = 461,3$; RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 10,58 (s a, 1H), 7,70 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,00 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,45 (tt, $J = 8,6, 4,1$ Hz, 1H), 4,15-4,00 (m, 2H), 3,73-3,60 (m, 1H), 3,47 (dd, $J = 11,0, 8,5$ Hz, 1H), 3,35-3,14 (m, 2H), 2,98-2,77 (m, 4H), 2,54 (d, $J = 13,2$ Hz, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,10-1,93 (m, 1H), 1,63-1,28 (m, 3H), 1,02-0,72 (m, 6H); Cl_{50} de hLPA₁ = 102 nM.</p>	Ejemplo 2

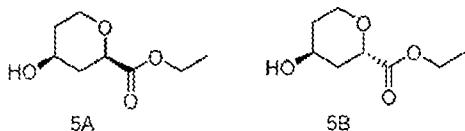
Ejemplo 5. ácido (\pm) -trans-4-(4-(4-((ciclopentilo(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-pirano-2-carboxílico

5



5A. (±)-cis-4-hidroxitetrahidro-2H-piran-2-carboxilato de etilo

10 5B. (\pm)-trans-4-hidroxitetrahidro-2H-piran-2-carboxilato de etilo

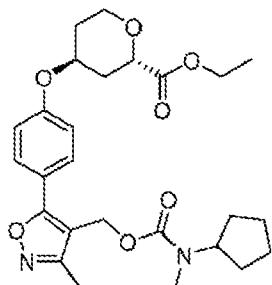


15 A una solución de 4-(formiloxi)tetrahidro-2H-piran-2-carboxilato de etilo (sintetizado como una mezcla de isómeros cis y trans de acuerdo con el procedimiento descrito en *Tetrahedron*, 1994, 50, 7115-7128; 2,25 g, 11,1 mmol) en EtOH (50 ml) se le añadió p-TsOH (0,32 g, 1,67 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 h, después de lo cual se añadieron agua y NaHCO₃ ac. sat. (50 ml cada uno) y la mezcla se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a 20 cromatografía (SiO₂; gradiente continuo del 50-100 % de EtOAc/hexanos) para proporcionar la mezcla de compuestos del título en forma de un aceite.

El Ejemplo 5A es el segundo isómero en eluir (681 mg, 35%). RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 4,25 (c, $J = 7,2$ Hz, 2H), 4,21-4,15 (m, 1H), 3,97 (dd, $J = 11,1, 2,6$ Hz, 1H), 3,93-3,84 (m, 1H), 3,47 (td, $J = 11,8, 2,2$ Hz, 1H), 2,33-2,27 (m, 1H), 1,97-1,86 (m, 1H), 1,69 (d a, $J = 4,4$ Hz, 1H), 1,65-1,61 (m, 1H), 1,60-1,53 (m, 1H), 1,30 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

25 El Ejemplo 5B es el primer isómero en eluir (74 mg, 3,8 %). RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 4,46 (m, 1H), 4,26-4,20 (m, 3H), 3,95-3,90 (m, 2H), 1,97-1,94 (m, 2H), 1,94-1,88 (m, 1H), 1,64-1,59 (m, 1H), 1,52 (s a, 1H), 1,29 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

30 5C. (±) trans-4-(4-(((Ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-2-carboxilato de etilo



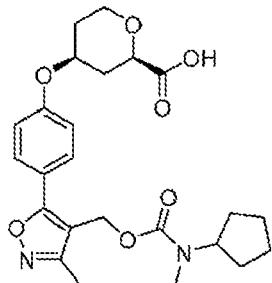
A una solución del Intermedio 1 (30 mg, 0,09 mmol), Ejemplo 5A (28 mg, 0,16 mmol), Et₃N (0,02 ml, 0,14 mmol) y Ph₃P (36 mg, 0,14 mmol) en THF (1,5 ml) se le añadió DEAD (0,062 ml, 0,14 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a TA, después se concentró al vacío y el residuo se sometió a cromatografía (SiO₂; gradiente continuo del 15-70 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (29 mg, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM, [M+H]⁺ = 487, RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,75 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,03 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,82 (m, 1H), 4,54-4,45 (m, 1H), 4,28-4,24 (m, 2H), 3,98 (m, 2H), 2,78 (m, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,26 (m, 1H), 2,08-1,95 (m, 2H), 1,93-1,87 (m, 1H), 1,86-1,47 (m, 9H), 1,32-1,29 (m, 3H).

10

Ejemplo 5

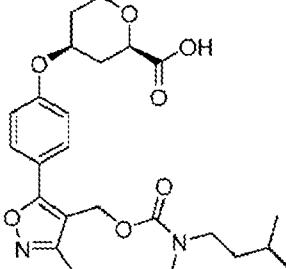
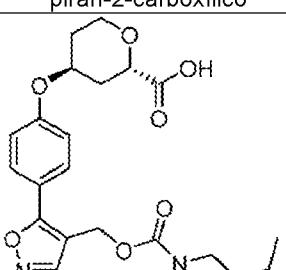
A una solución del Ejemplo 5C (29 mg, 0,060 mmol) en MeOH (1,5 ml) y THF (1,5 ml) se le añadió LiOH 2 M ac. (1,5 ml, 3,0 mmol). La reacción se calentó a 50 °C durante 1 h, después se enfrió a TA, se diluyó con H₂O, se acidificó con HCl ac. 1 N y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H₂O, salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 × 200 mm, partículas de 5 μm; Fase móvil A: MeCN:H₂O 5:95 con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: MeCN:H₂O 95:5 con TFA al 0,1 %; Gradiente: 30-70 % de B durante 20 min, después una retención de 5 min al 100 % de B; Flujo: 20 ml/min para proporcionar el compuesto del título (15 mg, 55 % de rendimiento). CL-EM, [M+H]⁺ = 459. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,76 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,20 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,07 (s, 2H), 4,88 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 3,88-3,74 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,10-1,40 (m, 12H). Cl₅₀ de hLPA₁ = 560 nM.

Ejemplo 6. ácido (±)-cis-4-(4-((ciclopentilo(metil)carbamoyl)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahydro-2H-pirano-2-carboxílico

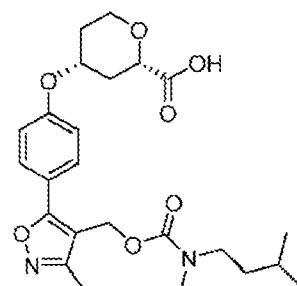


El Ejemplo 6 se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis del Ejemplo 5 haciendo reaccionar el Intermedio 1 con el Ejemplo 5B (en lugar del Ejemplo 5A). CL-EM, [M+H]⁺ = 459. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,74 (d a, J = 8,9 Hz, 2H), 7,19 (d a, J = 8,5 Hz, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,78 (m, 1H), 4,15-4,00 (m, 2H), 3,60-3,41 (m, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,37-2,33 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,5 (m, 1H), 1,73-1,39 (m, 10H). Cl₅₀ de hLPA₁ = 290 nM.

Los ejemplos de la siguiente tabla se sintetizaron de acuerdo con los procedimientos descritos para la preparación del Ejemplo 5 o del Ejemplo 6.

N.º de Ej.	Estructura y nombre	Datos analíticos y biológicos	Método
7	 <p>ácido (\pm)-cis-4-(4-((isopentyl (metil)carbamoyl)oxi)methyl)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi tetrahydro-2H-piran-2-carboxílico</p>	$[M+H]^+ = 461$; RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,74 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 7,19 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,78 (m, 1H), 4,07 (m, 2H), 3,53 (m, 1H), 3,27-3,10 (m, 2H), 2,80 (m, 3H), 2,37 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,5 (m, 1H), 1,63-1,20 (m, 5H), 0,87 (m, 3H), 0,74 (m, 3H); Cl_{50} de hLPA ₁ = 200 nM.	En el Ejemplo 5 se usó el análogo de isopentilo del intermedio 1
8	 <p>ácido (\pm)-trans-4-(4-((isopentyl (metil)carbamoyl)oxi)methyl)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi tetrahydro-2H-piran-2-carboxílico</p>	$[M+H]^+ = 461$; RMN 1H (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 7,75 (s a, 2H), 7,18 (d a, $J = 7,3$ Hz, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,85 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,88-3,72 (m, 2H), 3,25-3,10 (m, 2H), 2,79 (m, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,00 (m, 2H), 1,89 (m, 1H), 1,72 (m, 1H), 1,50-1,20 (m, 3H), 0,87 (s a, 3H), 0,75 (d a, $J = 4,0$ Hz, 3H); Cl_{50} de hLPA ₁ = 1100 nM.	En el Ejemplo 6 se usó el análogo de isopentilo del intermedio 1

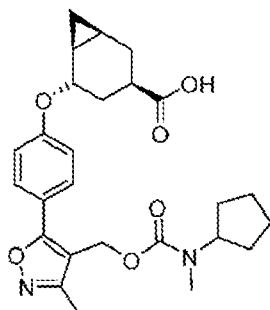
Ejemplo 9 (enantiómero único; no se determinó la estereoquímica absoluta y se extrae aquí arbitrariamente) ácido (2S,4R)-4-(4-((isopentil(metil)carbamoyl)oxi)methyl)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi tetrahydro-2H-piran-2-carboxílico



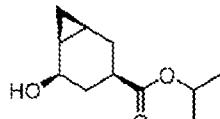
5

El Ejemplo 7 (racemato) se separó en sus enantiómeros individuales usando SFC quiral preparativa. Columna: Chiraldak AD, 21 x 250 mm, 5 μ m. Fase móvil: 15 % de EtOH-TFA al 0,1 %/ 85 % de CO_2 . Condiciones de flujo: 45 ml/min, 15.000 KPa (150 bar), 40 °C. El segundo enantiómero en eluir fue el compuesto activo (Ejemplo 9). CLEM, $[M+H]^+ = 461$. RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,73 (d a, $J = 6,3$ Hz, 2H), 7,01 (d a, $J = 6,3$ Hz, 2H), 5,07 (s, 2H), 4,55 (m, 1H), 4,34-4,06 (m, 2H), 3,66 (m, 1H), 3,33-3,17 (m, 2H), 2,93-2,83 (m, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,14 (m, 1H), 2,01 (m, 1H), 1,91-1,45 (m, 5H), 0,93 (d a, $J = 5,0$ Hz, 3H), 0,83 (d a, $J = 4,4$ Hz, 3H). Cl_{50} de hLPA₁ = 41 nM.

Ejemplo 10 (estereoquímica absoluta obtenida arbitrariamente) ácido (\pm)-(1S,3R,5S,6S)-5-(4-(4-((ciclopentil(metil)carbamoyl)oxi)methyl)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico (racemato)



10A. (±)-(1S,3R,5R,6S)-5-hidroxibiciclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de isopropilo (racemato)



5

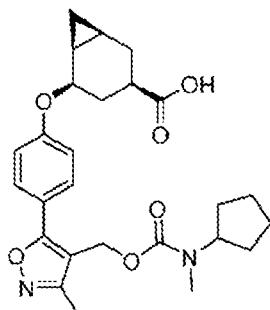
A $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (10 ml) se le añadió una solución de Et_2Zn 1 M en hexano (5,43 ml, 5,43 mmol) en atmósfera de N_2 . La solución se enfrió a 0 °C y una solución de TFA (0,418 ml, 5,43 mmol) en CH_2Cl_2 se añadió lentamente (3 ml) gota a gota durante 10 min. La reacción se agitó durante 20 min a 0 °C; se añadió una solución de CH_2I_2 (0,437 ml, 5,43 mmol) en CH_2Cl_2 (2 ml). La reacción se agitó durante 20 min a 0 °C. Se añadió una solución de (±)-cis-5-hidroxibiciclohex-3-eno carboxilato de isopropilo (preparado de acuerdo con el procedimiento de Yu, S. H. et al., *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, 15, 581-584; 0,50 g, 2,71 mmol) en CH_2Cl_2 (3 ml) y se dejó que la reacción se calentara lentamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 30 min, después se inactivó con HCl acuoso 0,1 N (50 ml). La capa acuosa se extrajo con hexanos (3×50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO_3 ac. saturado, agua y salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (24 g de SiO_2 , gradiente continuo del 0 al 70 % de EtOAc en hexano durante 45 min a 15 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (475 mg, 2,16 mmol, 79 % de rendimiento). RMN ^1H (CDCl_3) δ : 4,97 (dt, $J = 12,5, 6,3$ Hz, 1H), 4,24 (dt, $J = 11,1, 5,7$ Hz, 1H), 2,12-2,26 (m, 2H), 1,92-2,03 (m, 1H), 1,42-1,55 (m, 2H), 1,23-1,35 (m, 1H), 1,21 (d, $J = 6,4$ Hz, 6H), 1,01 (td, $J = 12,6, 11,3$ Hz, 1H), 0,67 (td, $J = 8,7, 4,8$ Hz, 1H), 0,29 (c, $J = 5,3$ Hz, 1H).

Ejemplo 10

A una solución a TA del Ejemplo 10A (30 mg, 0,15 mmol), el Intermedio 1 (25 mg, 0,076 mmol) y Et_3N (0,021 ml, 0,151 mmol) en THF (0,7 ml) se le añadió DIAD (0,031 ml, 0,16 mmol) a TA y la reacción se agitó a TA durante 2 días. Se añadieron LiOH 4,0 M acuoso (0,189 ml, 0,757 mmol) y MeOH (0,2 ml) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche, después se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa usando las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 × 200 mm, partículas de 5 μm ; Fase móvil A: $\text{MeCN:H}_2\text{O}$ 5:95 con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: $\text{MeCN:H}_2\text{O}$ 95:5 con TFA al 0,1 %; Gradiente: 47-77 % de B durante 25 min, después una retención de 3 min al 77 % de B; Caudal: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto del título (19 mg, 0,041 mmol, 53,6 % de rendimiento). RMN ^1H (DMSO-d_6) δ : 7,60 (d a, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,04 (d a, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,91 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,04-2,14 (m, 1H), 1,18-1,89 (m, 13H), 0,98 (d a, $J = 4,0$ Hz, 2H), 0,63 (td, $J = 9,0, 4,9$ Hz, 1H), 0,01 (c, $J = 4,9$ Hz, 1H). CLEM, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 469,3$; Cl_{50} de $\text{LPA}_1 = 182$ nM.

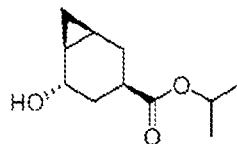
35

Ejemplo 11. ácido (±)-(1R,3R,5R,6R)-5-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico (racemato)



40

11A. (±)-(1S,3R,SS,6S)-5-hidroxibiciclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de isopropilo



5 A una solución agitada de ácido 4-metilciclopropanocarboxílico (295 g, 1,77 mmol), Ejemplo 10A (175 mg, 0,88 mmol) y Ph₃A P (463 mg, 1,77 mmol) en THF (1,5 ml) se le añadió DIAD (0,34 ml, 1,77 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche, después se concentró al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (12 g de SiO₂, gradiente continuo del 0 al 70 % de EtOAc en hexano durante 30 min a 10 ml/min) para proporcionar el (±)-(1S,3R,5S,6S)-5-((4-nitrobenzoil)oxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de isopropilo en bruto (0,23 g, 0,65 mmol, 74 % de rendimiento) en forma de un aceite. A una solución del éster de 4-nitrobenzoato en bruto (0,23 g, 0,65 mmol) en THF (1,9 ml) se le añadió LiOH 2 M acuoso (0,36 ml, 0,72 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a TA, después se acidificó con HCl ac. 1 N y se concentró parcialmente al vacío. La mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 5 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (4 g de SiO₂, gradiente continuo del 0 al 100 % de EtOAc en hexano durante 30 min) para proporcionar el compuesto del título (80 mg, 0,40 mmol, 61,7 % de rendimiento). RMN ¹H (CDCl₃) δ: 4,99 (dt, J = 12,5, 6,3 Hz, 1H), 4,41 (d a, J = 1,1 Hz, 1H), 2,67 (tdd, J = 12,5, 6,2, 2,9 Hz, 1H), 2,22-2,38 (m, 1H), 1,77-1,90 (m, 1H), 1,59 (ddd, J = 14,3, 12,3, 2,0 Hz, 1H), 1,39 (ddd, J = 14,4, 12,9, 2,9 Hz, 1H), 1,23 (dd, J = 6,3, 1,2 Hz, 6H), 0,93-1,18 (m, 2H), 0,75 (td, J = 9,1, 5,1 Hz, 1H), 0,08-0,06 (m, 1H).

10

15

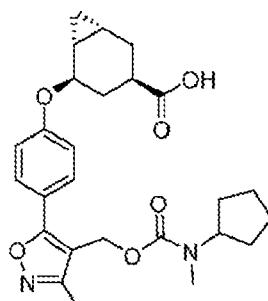
Ejemplo 11

20 A una solución a TA del Intermedio 1 (25 mg, 0,076 mmol), Ejemplo 11A (17 mg, 0,083 mmol) y Ph₃P (40 mg, 0,15 mmol) en THF (0,7 ml) se le añadió DIAD (31 µl, 0,16 mmol). La reacción se agitó durante 2 días a TA; se añadieron MeOH (0,5 ml) y LiOH 4 M ac. (0,19 ml, 0,76 mmol). La mezcla se agitó a TA durante la noche, después se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: XBridge C18, 19 × 200 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: 5:95 de MeCN:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 de MeCN:agua con TFA al 0,1 %; Gradiente: 45-75 % de B durante 25 min, después una retención de 3 min al 75 % de B; Flujo: 20 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (4,2 mg, 9,0 µmol, 11,9 % de rendimiento). CLEM, [M+Na]⁺ = 491,1; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,73 (d a, J = 8,5 Hz, 2H), 7,22 (d a, J = 8,5 Hz, 2H), 5,19-5,02 (m, 3H), 3,37 (s a, 1H), 2,69 (s, 3H), 2,41-2,28 (m, 4H), 2,26-2,16 (m, 1H), 2,11-2,02 (m, 1H), 1,73-1,03 (m, 13H), 0,75-0,64 (m, 1H), 0,42 (d a, J = 5,2 Hz, 1H); Cl₅₀ de hLPA₁ = 65 nM.

25

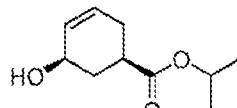
30

Ejemplo 12. ácido (±)-(1R,3R,5R,6R)-5-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico



35

12A. (±)-Cis-5-hidroxiciclohex-3-enocarboxilato de isopropilo

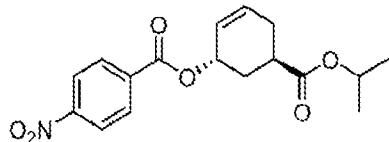


40

Se añadió cloruro de acetilo (3,16 ml, 44,5 mmol) en porciones a iPrOH (50 ml) a 0 °C; la solución se agitó a TA durante 30 min. Se añadió 6-oxabiciclo[3.2.1]oct-3-en-7-ona (sintetizada, por ejemplo, como en M. Kato *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1975, 40, 1932-1941; 4,6 g, 37,1 mmol) y la reacción se agitó a TA durante la noche, después se concentró al vacío y se destiló azeotrópicamente con tolueno. El producto en bruto se sometió a cromatografía (80 g de SiO₂, gradiente continuo del 0 al 70 % de EtOAc/hexanos durante 50 min) para proporcionar el compuesto del título (4,30 g, 23,3 mmol, 63,0 % de rendimiento). [M+H]⁺ = 185,1.

45

12B. (±)-Trans-4-nitrobenzoato de 5-(isopropoxicarbonil)ciclohex-2-en-1-ilo

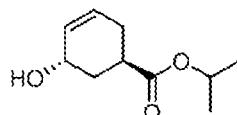


5 A una solución a TA de ácido 4-nitrobenzoico (2,20 g, 13,2 mmol), 12A (1,62 g, 8,79 mmol) y Ph₃P (3,46 g, 13,2 mmol) en THF (35,2 ml) se le añadió DIAD (2,56 ml, 13,2 mmol). La reacción se agitó durante la noche a TA; se añadió agua y la mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se concentró al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (80 g de SiO₂, gradiente continuo del 0 al 100 % de EtOAc/Hexano durante 50 min a 30 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (2,49 g, 7,10 mmol, 81 % de rendimiento). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,32-8,26 (m, 2H), 8,24-8,18 (m, 2H), 6,10 (ddd, *J* = 10,1, 5,0, 2,3 Hz, 1H), 5,98-5,89 (m, 1H), 5,62-5,54 (m, 1H), 5,12-4,98 (m, 1H), 2,83 (dd, *J* = 12,7, 10,8, 5,3, 3,1 Hz, 1H), 2,48 (dt, *J* = 18,4, 5,2 Hz, 1H), 2,40-2,21 (m, 2H), 2,08-1,94 (m, 1H), 1,26 (dd, *J* = 6,3, 0,8 Hz, 6H).

10

15

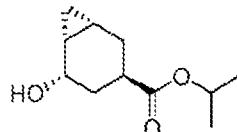
12C. (±)-Trans-5-hydroxicyclohex-3-enecarboxylato de isopropilo



20 A una mezcla de 12B (1,50 g, 4,50 mmol) en THF (18 ml) se le añadió LiOH ac. 1 N (2,48 ml, 4,95 mmol). La reacción se agitó a TA durante la noche, después se acidificó con HCl ac. 1 N y se concentró parcialmente al vacío. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (80 g de SiO₂, gradiente continuo del 0 al 100 % de EtOAc en hexano durante 60 min a 35 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (0,64 g, 3,30 mmol, 73,3 % de rendimiento). RMN ¹H (400 MHz, MeOH-d₄) δ 5,79-5,63 (m, 2H), 4,94-4,81 (m, 1H), 4,06 (d a, *J* = 4,0 Hz, 1H), 2,64 (ddd, *J* = 11,9, 10,0, 5,3, 3,1 Hz, 1H), 2,24-2,12 (m, 1H), 2,08-1,98 (m, 1H), 1,94-1,85 (m, 1H), 1,66 (ddd, *J* = 13,5, 11,9, 4,3 Hz, 1H), 1,13 (d, *J* = 6,2 Hz, 7H).

25

12D. (±)-(1R,3R,5S,6R)-5-hidroxibiciclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de isopropilo



30 A ClCH₂CH₂Cl (12 ml) se le añadió Et₂Zn 1 M en hexano (6,73 ml, 6,73 mmol) en atmósfera de N₂, después se enfrió a 0 °C. Una solución de TFA (0,52 ml, 6,73 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml) se añadió lentamente gota a gota a la mezcla de reacción durante 10 min. La reacción se agitó a 0 °C durante 20 min, después de lo cual se añadió una solución de CH₂I₂ (0,54 ml, 6,73 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml). La reacción se agitó a 0 °C durante 20 min, después se añadió una solución de 12C (0,62 g, 3,37 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml). La reacción se agitó a 0 °C durante 30 min, después se interrumpió con HCl acuoso 0,1 N (50 ml) y hexanos (25 ml). La capa acuosa se extrajo con hexanos (2 × 25 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ ac. saturado, agua y salmuera, después se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron y se concentraron al vacío. El material en bruto se sometió a cromatografía (24 g de SiO₂; gradiente continuo del 0 al 70 % de EtOAc en hexano durante 45 min a 15 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (0,24 g, 1,21 mmol, 36,0 % de rendimiento). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,99 (dt, *J* = 12,4, 6,2 Hz, 1H), 4,43 (dt, *J* = 7,3, 5,0 Hz, 1H), 2,44-2,28 (m, 1H), 2,01-1,87 (m, 2H), 1,73-1,49 (m, 3H), 1,38-1,07 (m, 8H), 0,55 (td, *J* = 8,9, 5,1 Hz, 1H), 0,45-0,36 (m, 1H).

35

40

Ejemplo 12

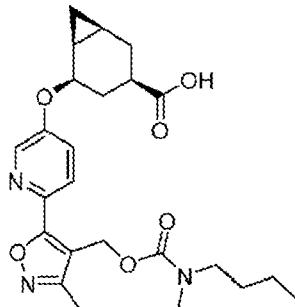
45 A una solución a TA del Intermedio 1 (25 mg, 0,076 mmol), Ejemplo 12D (18 mg, 0,091 mmol) y Ph₃P (40 mg, 0,15 mmol) en THF (0,7 ml) se le añadió DIAD (31 μ l, 0,16 mmol). La reacción se agitó durante 2 días a TA, después de lo cual se añadieron MeOH (0,5 ml) y LiOH (0,19 ml, 0,76 mmol). La mezcla se agitó a TA durante la noche, después se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: XBridge C18, 19 × 200 mm, partículas de 5 μ m; Fase móvil A: 5:95 de MeCN:agua con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 de MeCN:agua con TFA al 0,1 %; Gradiente: 45-75 % de B durante 25 min, después una retención de 3 min al 75 % de B; Flujo: 20 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (4,2 mg, 9,0 μ mol, 11,9 % de rendimiento). [M+Na]⁺ = 491,1; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,74 (d a, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,14 (d a, *J* = 8,2 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,53 (dd a, *J* = 9,0, 5,3 Hz, 1H), 3,48 (d a, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,66 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,20-1,99 (m, 3H), 1,82 (td, *J* = 12,6, 5,0 Hz, 1H), 1,71-1,29 (m, 10H), 1,19 (s a, 1H), 0,94 (d a, *J* = 5,2 Hz, 1H), 0,73-0,65 (m, 1H), 0,31 (d a, *J* = 4,9 Hz, 1H); Cl₅₀ de hLPA₁

50

= 197 nM.

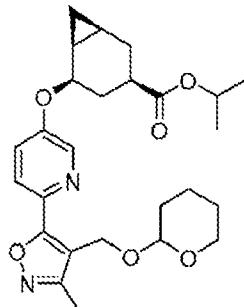
Ejemplo 13. ácido (\pm) -(1S,3R,5R,6S)-5-((6-(4-((butil(metil)carbamoyl)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)piridin-3-il)oxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico (racemato)

5



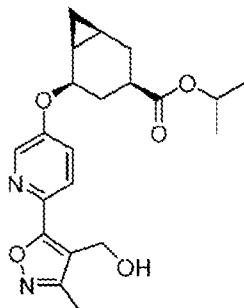
13A. (\pm) -(1S,3R,5R,6S)-5-((6-(3-metil-4-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)isoxazol-5-il)piridin-3-il)oxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de isopropilo

10



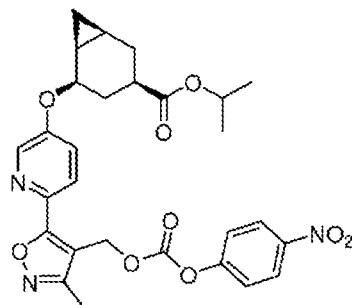
A una solución a TA de 6-(3-metil-4-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)isoxazol-5-il)piridin-3-ol (Intermedio 2C en el documento WO2019/126099; 59 mg, 0,20 mmol), Ejemplo 11A (49 mg, 0,20 mmol) y Ph₃P (106 mg, 0,40 mmol) en THF (0,7 ml) se le añadió DIAD (82 μ l, 0,42 mmol). La reacción se agitó a TA durante 4 días, después se concentró al vacío. El residuo se sometió a cromatografía (24 g de SiO₂; gradiente continuo de 0 a 90 % de EtOAc en hexano durante 50 min a 15 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (120 mg, 0,153 mmol, 76 % de rendimiento). [M+H]⁺ = 471,3.

20 13B. (\pm) -(1S,3R,5R,6S)-5-((6-(4-(hidroximetil)-3-metilisoxazol-5-il)piridin-3-il)oxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de isopropilo



25 La mezcla de 3H (120 mg, 0,179 mmol) y PPTS (8,96 mg, 0,036 mmol) en MeOH (1 ml) se calentó a 60 °C durante la noche, el disolvente se retiró, y se repartió entre DCM y solución acuosa de NaHCO₃ sat. El extracto orgánico se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía (columna de SiO₂ de 4 g, del 0 al 70 % de EA/Hex durante 15 min) para obtener 4I (100 mg, 0,220 mmol, 123 % de rendimiento). [M+H]⁺ = 387,2.

30 13C. (\pm) -(1S,3R,5R,6S)-5-((6-(3-metil-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)isoxazol-5-il)piridin-3-il)oxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de isopropilo

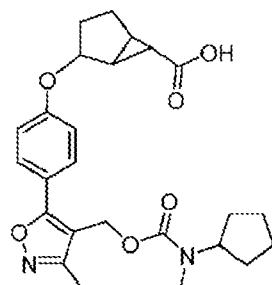


5 A una solución de 13B (100 mg, 0,259 mmol) y piridina (125 μ l, 1,55 mmol) en DCM (1,3 ml) se le añadió cloroformiato de 4-nitrofenilo (104 mg, 0,52 mmol). La reacción se agitó a TA durante la noche, después de lo cual se añadió más cloroformiato de 4-nitrofenilo (104 mg, 0,52 mmol) y se continuó agitando a TA durante la noche. La mezcla se repartió entre DCM y NaHCO_3 ac. saturado (10 ml cada uno). La capa orgánica se lavó con salmuera y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto (143 mg, 0,259 mmol, 100 % de rendimiento). $[\text{M}+\text{H}]^+ = 552,3$.

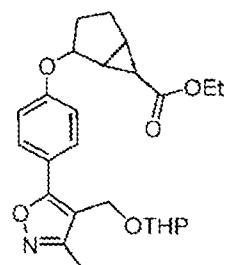
Ejemplo 13

10 A una solución de 13C (30 mg, 0,054 mmol) y N-metilbutan-1-amina (10 mg, 0,11 mmol) en DCM (0,3 ml) se le añadió Et_3N (38 μ l, 0,27 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche, después se repartió entre DCM y NaHCO_3 ac. saturado (10 ml cada uno). La capa orgánica se lavó con salmuera y se concentró al vacío. El aceite de color pardo en bruto se disolvió en THF (0,7 ml) y MeOH (0,5 ml), después se añadió LiOH ac. 4 M (136 μ l, 0,544 mmol). La reacción se agitó durante la noche a TA, después se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: XBridge C18, 19 \times 200 mm, partículas de 5 μ m; Fase móvil A: MeCN:agua 5:95 con NH_4OAC ac. 10 mM; Fase móvil B: MeCN:agua 95:5 con NH_4OAC ac. 10 mM; Gradiante: 15-55 % de B durante 30 min, después una retención de 5 min al 100 % de B; Flujo: 20 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (1,3 mg, 2,8 μ mol, 5,2 % de rendimiento). $[\text{M}+\text{H}]^+ = 458,0$; RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) δ 8,49 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,87 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,70 (dd, $J = 8,7, 2,6$ Hz, 1H), 5,35 (d a, $J = 15,0$ Hz, 2H), 5,22 (dt, $J = 10,8, 5,6$ Hz, 1H), 3,25-3,03 (m, 2H), 2,77 (d a, $J = 9,8$ Hz, 3H), 2,38-2,27 (m, 4H), 2,21 (dt, $J = 13,8, 7,0$ Hz, 1H), 2,14-2,04 (m, 1H), 1,60-0,97 (m, 9H), 0,94-0,59 (m, 4H), 0,45 (c, $J = 5,1$ Hz, 1H); Cl_{50} de hLPA₁ = 22 nM

25 Ejemplo 14. Ácido (\pm)-2-(4-(((ciclopentil(metil)carbamoi)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico (racemato)



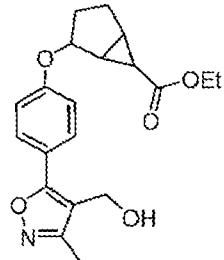
30 14A. (\pm)-2-(4-(3-Metil-4-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)isoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (mezcla de diastereómeros)



35 A una mezcla del Intermedio 1C (0,25 g, 0,864 mmol), 2-hidroxi-biciclo[3.1.0] hexano-6-carboxilato de etilo (0,265 g, 1,57 mmol) en dioxano (8,64 ml) se le añadieron Bu_3P (0,647 ml, 2,59 mmol) y (E)-diazeno-1,2-diilbis(piperidin-1-il)metanona (0,654 g, 2,59 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 2 h, después se enfrió a TA y se filtró. El filtrado se concentró al vacío; el residuo se sometió a cromatografía (24 g de SiO_2 ; gradiente continuo del 0 al 100 % EtOAc en hexano durante 50 min a 15 ml/min), para proporcionar el compuesto del título (0,265 g, 1,56 mmol) en forma de

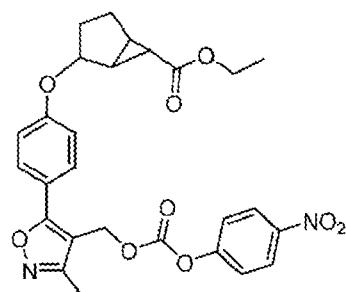
un aceite. $[M+H]^+ = 442,3$.

14B. (\pm) -2-(4-(4-(Hidroximetil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0] hexano-6-carboxilato de etilo



5

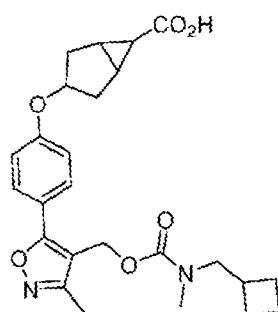
- Una mezcla del Ejemplo 14A (0,265 g; 1,56 mmol) y PPTS (0,047 g, 0,186 mmol) en MeOH (5 ml) se calentó a 60 °C durante la noche, después se enfrió a TA y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre DCM y NaHCO₃ ac. saturado (20 ml cada uno). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío. El aceite en bruto se sometió a cromatografía (12 g de SiO₂, gradiente continuo del 0 al 70 % de EtOAc en hexano durante 15 min) para proporcionar el compuesto del título (0,20 g, 0,53 mmol, 57,2 % de rendimiento). $[M+H]^+ = 358,1$; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,73 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,02 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 4,85 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 4,63 (s a, 2H), 4,17-4,08 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,25-2,06 (m, 3H), 1,98-1,82 (m, 3H), 1,53-1,40 (m, 2H), 1,30-1,22 (m, 3H).
- 10 14C. (\pm) -2-(4-(3-Metil-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)isoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



- 20 A una solución del Ejemplo 14B (0,20 g, 0,560 mmol) y cloroformiato de 4-nitrofenilo (0,338 g, 1,68 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) se le añadió piridina (0,226 ml, 2,80 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h, después se usó en la siguiente etapa sin tratamiento.

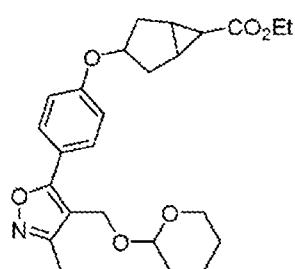
Ejemplo 14

- 25 A una mezcla del Ejemplo 14C (30 mg, 0,057 mmol) y N-metilciclopentan-amina (28,5 mg, 0,287 mmol) en CH₂Cl₂ (287 μl) se le añadió Et₃N (240 μl, 1,72 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 18 h, después de lo cual se añadieron THF (0,5 ml/MeOH (0,1 ml) y LiOH ac. 1N (144 μl, 0,574 mmol). La reacción se agitó a TA durante la noche, después se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm; Fase móvil A: MeCN:H₂O 5:95 con NH₄OAc ac. 10 mM; Fase móvil B: MeCN:H₂O 95:5 con NH₄OAc ac. 10 mM; Gradiente: 15-100 % de B durante 19 min, después una retención de 5 min al 100 % de B; Flujo: 20 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (5 mg, 10,3 μmol, 18 % de rendimiento). $[M+H]^+ = 455,3$; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,73 (d a, J = 8,6 Hz, 2H), 7,14 (d a, J = 8,7 Hz, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,95 (d a, J = 4,7 Hz, 1H), 2,65 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,01-1,33 (m, 16H); Cl₅₀ de hLPA₁ = 48 nM.
- 30 35 Ejemplo 15. Ácido (\pm) -3-(4-(4-(((ciclobutilmetil)(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico



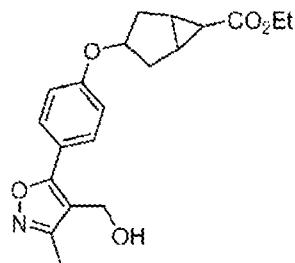
15A. (±)-3-(4-(3-methyl-4-((tetrahydro-2H-piran-2-yl)oxy)methyl)isoxazol-5-yl)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo

5



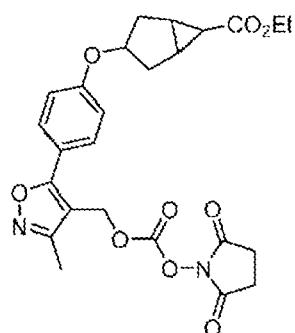
A una solución a TA del Intermedio 1C (0,175 g, 0,605 mmol), Intermedio 10 (0,185 g, 1,09 mmol) y Bu_3P (0,269 ml, 1,09 mmol) en THF (3,0 ml) se le añadió (E)-diazeno-1,2-diilbis(piperidin-1-il)metano-ona (0,275 g, 1,09 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 16 h, después se enfrió a TA y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía (12 g de SiO_2 ; gradiente continuo del 0-50 % de EtOAc en hexanos durante 15 min) para proporcionar el compuesto del título (0,25 g, 0,566 mmol, 94 % de rendimiento) en forma de un aceite.

15 15B. (±)-3-(4-(4-(Hidroximetil)-3-metilisoxazol-5-yl)fenoxi)biciclo[3.1.0] hexano-6-carboxilato de etilo



Una mezcla de 15A (0,252 g, 0,571 mmol) y HCl ac. 1 N (2,85 ml) en MeOH (2,85 ml) se agitó a TA durante 16 h. El MeOH se retiró al vacío; el residuo se repartió entre EtOAc y agua (15 ml cada uno). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 15 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto (0,20 g, 0,56 mmol, 98 % de rendimiento) en forma de un sólido. $[\text{M}+\text{H}]^+ = 358,3$

25 15C. (±)-3-(4-(((2,5-Dioxopirrolidin-1-yl)oxi)carbonil)oxi)methyl-3-metil-isoxazol-5-yl)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



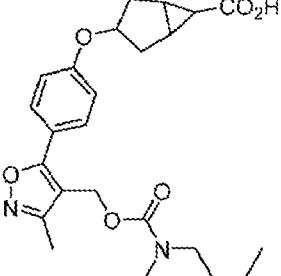
5 A una solución a TA de 15B (0,20 g, 0,56 mmol) y carbonato de bis(2,5-dioxopirrolidin-1-ilo) (0,287 g, 1,12 mmol) en THF (5,60 ml) se le añadió piridina (0,226 ml, 2,80 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h, después se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto (0,279 g, 0,56 mmol, rendimiento de 100 %) en forma de un sólido.

Ejemplo 15

10 A una solución a TA de 15C (30 mg, 0,060 mmol) y 1-ciclobutil-N-metilmetanamina (12 mg, 0,12 mmol) en THF (0,500 ml) se le añadió iPr₂NEt (0,053 ml, 0,30 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h, después se repartió entre EtOAc y agua (10 ml cada uno). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (10 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en MeOH/THF/agua (0,50 ml cada uno) y se añadió LiOH·H₂O (14 mg, 0,60 mmol). La reacción se agitó a 50 °C durante 3 días, después se enfrió a TA. El pH se ajustó a ~3 con HCl conc. y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: 15 XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: MeCN:H₂O 5:95 con TFA al 0,1 %; Fase móvil B: MeCN:H₂O 95:5 con TFA al 0,1 %; Gradiente: 40-80 % de B durante 20 min, después una retención de 5 min al 100 % de B; Flujo: 20 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (5,2 mg, 0,01 mmol, 18 % de rendimiento). [M+H]⁺= 454,9; RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 7,85-7,67 (m, 2H), 7,07 (d a, J = 8,7 Hz, 2H), 5,14 (s a, 2H), 4,66 (quint., J = 7,1 Hz, 1H), 3,29 (m, 2H), 2,87 (d a, J = 10,7 Hz, 3H), 2,53 (dd, J = 13,2, 7,1 Hz, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,12-1,56 (m, 10H), 1,47 (t, J = 2,9 Hz, 1H); Cl₅₀ de hLPA₁ = 563 nM

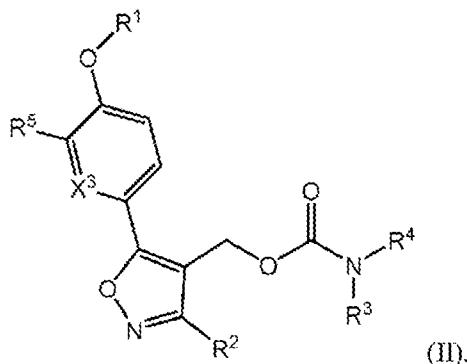
20

El ejemplo de la siguiente tabla se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos para la preparación del Ejemplo 15.

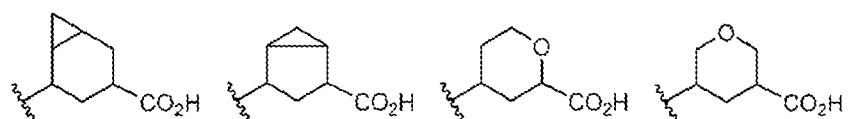
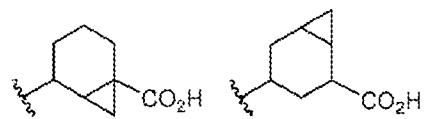
N.º de Ej.	Estructura y nombre	Datos analíticos y biológicos
16	 <p>ácido 3-(4-(4-((butyl(methyl)carbamoyl)oxy)butyl)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxyciclohexano-6-carboxílico (mezcla de diastereómeros)</p>	<p>[M+H]⁺ = 443,3; RMN ¹H (500 MHz, MeOH-d₄) δ 7,74 (s a, 2H), 7,06 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 5,13 (s a, 2H), 4,66 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 3,31-3,17 (m, 2H), 2,89 (d a, J = 11,6 Hz, 3H), 2,53 (dd, J = 13,1, 7,2 Hz, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,08-1,94 (m, 4H), 1,59-1,14 (m, 5H), 1,00-0,79 (m, 3H); Cl₅₀ de hLPA₁ = 372 nM.</p>

REIVINDICACIONES

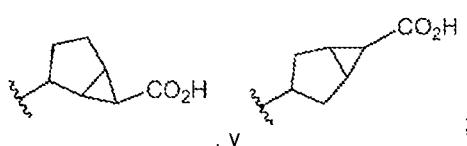
1. Un compuesto de Fórmula (II):



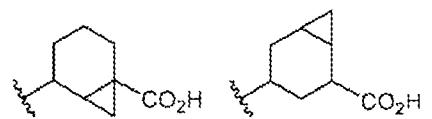
o un estereoisómero, un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, en donde:

10 X³ es independientemente CH o N;R¹ se selecciona independientemente de:

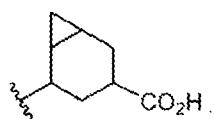
15

R² es independientemente alquilo C₁₋₄;20 R³ se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₄ y alquilo C₁₋₄ (total o parcialmente deuterado);R⁴ se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₆, -(CH₂)₀₋₂-(cicloalquilo C₃₋₆) y -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆); y R⁵ es independientemente H o alquilo C₁₋₄.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:

25 X³ es independientemente CH o N;R¹ se selecciona independientemente de:

30 y

R² es CH₃;35 R³ es independientemente CH₃ o CD₃;

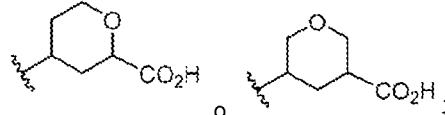
R⁴ se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ y -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆); y R⁵ es H.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:

5

X³ es CH;

R¹ es independientemente



10

R² es CH₃;

R³ es CH₃; y

R⁴ es independientemente alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆; y

R⁵ es H.

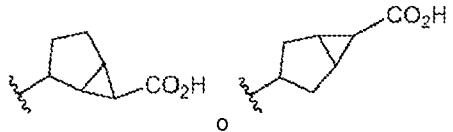
15

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:

X³ es independientemente CH o N;

R¹ es independientemente

20



R² es CH₃;

R³ es CH₃; y

25 R⁴ se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ y -CH(CH₃)-(cicloalquilo C₃₋₆); y

R⁵ es H.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que se selecciona de uno cualquiera de:

30 ácido (±)-trans-5-(4-(((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-pirano-3-carboxílico;

ácido (±)-cis-5-(4-(((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-piran-3-carboxílico;

35 ácido (±)-trans-5-(4-(((isopentil (metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi) tetrahidro-2H-piran-3-carboxílico;

ácido (±)-cis-5-(4-(((isopentil (metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi) tetrahidro-2H-piran-3-carboxílico;

ácidoo (±)-trans-4-(4-((ciclopentilo(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-pirano-2-carboxílico;

40 ácidoo (±)-cis-4-(4-((ciclopentilo(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)tetrahidro-2H-pirano-2-carboxílico;

ácidoo (±)-cis-4-(4-((isopentil (metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi) tetrahidro-2H-piran-2-carboxílico;

45 ácidoo (±)-trans-4-(4-((isopentil (metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi) tetrahidro-2H-piran-2-carboxílico;

ácidoo (2S,4R)-4-(4-((isopentil (metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi) tetrahidro-2H-piran-2-carboxílico;

50 ácidoo (±)-(1S,3R,5S,6S)-5-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico;

ácidoo (±)-(1R,3R,5R,6R)-5-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico;

55 ácidoo (±)-(1R,3R,5R,6R)-5-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico;

ácidoo (±)-(1S,3R,5R,6S)-5-((6-(4-((butil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)piridin-3-il)oxi)biciclo[4.1.0]heptano-3-carboxílico;

ácidoo (±)-2-(4-(4-((ciclopentil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico;

60 ácidoo (±)-3-(4-(4-((ciclobutilmetil)(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metil-isoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-

carboxílico; y
 ácido 3-(4-(((butil(metil)carbamoil)oxi)metil)-3-metilisoxazol-5-il)fenoxi)biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico;
 o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo.

- 5 6. Una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o un estereoisómero, tautómero, o sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos; y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 10 7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o un estereoisómero, tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, o una composición farmacéutica según la reivindicación 6, para su uso en terapia.
- 15 8. Un compuesto o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una composición farmacéutica según la reivindicación 6, para su uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección asociada a la desregulación del receptor 1 del ácido lisofosfatídico (LPAI), en donde la enfermedad, trastorno o afección es fibrosis patológica, rechazo de trasplante, cáncer, osteoporosis o trastornos inflamatorios.
- 20 9. El compuesto o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la fibrosis patológica es fibrosis pulmonar, hepática, renal, cardíaca, dérmica, ocular o pancreática.
- 25 10. El compuesto o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la enfermedad, trastorno o afección es fibrosis pulmonar idiopática (IPF), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD, por sus siglas en inglés), nefropatía crónica, nefropatía diabética y esclerosis sistémica.
- 30 11. El compuesto o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el cáncer es de la vejiga, sangre, hueso, cerebro, mama, sistema nervioso central, cuello del útero, colon, endometrio, esófago, vesícula biliar, genitales, tracto genitourinario, cabeza, riñón, laringe, hígado, pulmón, tejido muscular, cuello, mucosa oral o nasal, ovario, páncreas, próstata, piel, bazo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, testículo o tiroides.
- 35 12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, o una composición farmacéutica según la reivindicación 6, para su uso en el tratamiento de la fibrosis en un mamífero que lo necesita, preferentemente en donde la fibrosis es fibrosis pulmonar idiopática (IPF), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), nefropatía crónica, nefropatía diabética o esclerosis sistémica.
- 40 13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o un estereoisómero, un tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, o una composición farmacéutica según la reivindicación 6, para su uso en el tratamiento de la fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis renal, lesión renal aguda, nefropatía crónica, fibrosis hepática (esteatohepatitis no alcohólica), fibrosis cutánea, fibrosis del intestino, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de próstata, glioblastoma, cáncer de huesos, cáncer de colon, cáncer de intestino, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, mieloma múltiple, leucemia linfocítica crónica, dolor por cáncer, metástasis tumoral, rechazo de trasplante de órgano, esclerodermia, fibrosis ocular, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), retinopatía diabética, enfermedad vascular por colágeno, ateroesclerosis, fenómeno de Raynaud o dolor neuropático en un mamífero que lo necesita.
- 45