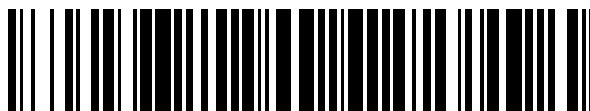


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 915**

51 Int. Cl.:  
**C07D 405/12** (2006.01)  
**C07D 207/12** (2006.01)  
**A61K 31/4025** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01939230 .7**  
96 Fecha de presentación: **18.05.2001**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1286989**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.03.2003**

54 Título: **Profármaco de un inhibidor de ICE**

30 Prioridad:  
**19.05.2000 US 205439 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.05.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.05.2012**

73 Titular/es:  
**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED  
PATENT DEPARTMENT, 130 WAVERLY STREET  
CAMBRIDGE, MA 02139-4242, US**

72 Inventor/es:  
**WANNAMAKER, Marion y  
DAVIES, Robert**

74 Agente/Representante:  
**Arias Sanz, Juan**

ES 2 380 915 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

Profármaco de un inhibidor de ICE

- 5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° de Serie 60/205.439, presentada el 19 de mayo de 2000.

## CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCIÓN

- 10 La presente invención se refiere a un nuevo inhibidor de la enzima convertidora de interleucina-1 $\beta$  (ICE) en su forma de profármaco. El compuesto y las composiciones farmacéuticas del mismo son útiles como agentes para tratar enfermedades mediadas por interleucina-1 (IL-1), apoptosis, factor inductor de interferón- $\gamma$  (IL-18) o interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), incluyendo enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, trastornos óseo destructivos, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas y enfermedades degenerativas. Esta invención también se refiere a
- 15 procedimientos para inhibir la actividad de ICE y disminuir la producción de IL-18 y de IFN- $\gamma$  y procedimientos para tratar enfermedades mediadas por interleucina-1, apoptosis e interferón- $\gamma$  usando las composiciones de esta invención.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

- 20 La interleucina-1 (IL-1) es una proteína principal proinflamatoria e inmunorreguladora que estimula la diferenciación y proliferación de fibroblastos, la producción de prostaglandinas, colagenasa y fosfolipasa por medio de células sinoviales y condrocitos, desgranulación basófila y eosinófila y activación neutrófila. Oppenheim, J.H. y col., Immunology Today, 7, págs. 45-56 (1986). Como tal, está involucrada en la patogénesis de enfermedades
- 25 autoinmunes e inflamatorias crónicas y graves. Por ejemplo, en la artritis reumatoide, IL-1 es tanto un mediador de síntomas inflamatorios como de la destrucción del proteoglicano del cartílago en las articulaciones afectadas. Wood, D.D. y col., Arthritis Rheum. 26, 975, (1983); Pettipher, E.J. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 295 (1986); Arend, W.P. y Dayer, J.M., Arthritis Rheum. 38, 151 (1995). IL-1 también es un agente de reabsorción ósea muy potente. Jandiski, J.J., J. Oral Path 17, 145 (1988); Dewhirst, F.E. y col., J. Immunol. 8, 2562 (1985). Como alternativa, se
- 30 denomina "factor de activación de osteoclastos" en enfermedades óseo destructivas, tales como osteoartritis y mieloma múltiple. Bataille, R. y col., Int. J. Clin. Lab. Res. 21 (4), 283 (1992). En ciertos trastornos proliferativos, tales como, por ejemplo, leucemia mielógena aguda y mieloma múltiple, IL-1 puede promover el crecimiento y adhesión de células tumorales. Bani, M.R., J. Natl. Cancer Inst. 83, 123 (1991); Vidal-Vanaclocha, F., Cancer Res. 54, 2667 (1994). En estos trastornos, IL-1 también estimula la producción de otras citocinas, tales como IL-6, que pueden
- 35 modular el desarrollo tumoral (Tartour y col., Cancer Res. 54, pág. 6243 (1994)). IL-1 se produce, predominantemente, por medio de los monocitos en sangre periférica, como una parte de la respuesta inflamatoria, y existe en dos formas agonistas distintas, IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Mosley, B.S. y col., Proc. Natl. Acad. Sci., 84, págs. 4572-4576 (1987); Lonnemann, G. y col., Eur. J. Immunol., 19, págs. 1531-1536 (1989).
- 40 IL-1 $\beta$  se sintetiza como un precursor biológicamente inactivo, pro-IL-1 $\beta$ . Pro-IL-1 $\beta$  carece de una secuencia líder convencional y no se procesa por una señal peptidasa. March, C.J., Nature, 315, págs. 641-647 (1985). En cambio, pro-IL-1 $\beta$  se escinde por medio de la enzima convertidora de interleucina-1 $\beta$  (ICE) entre Asp-116 y Ala-117 para producir el fragmento C terminal biológicamente activo encontrado en el suero y líquido sinovial del ser humano. Sleath, P.R. y col., J. Biol. Chem., 265, págs. 14526-14528 (1992); A.D. Howard y col., J. Immunol., 147, págs. 2964-
- 45 2969 (1991). ICE es una proteasa de cisteína localizada principalmente en los monocitos. Convierte al precursor de IL-1 $\beta$  en su forma madura. Black, R.A. y col., FEBS Lett., 247, págs. 386-390 (1989); Kostura, M.J. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, págs. 5227-5231 (1989). El procesamiento por medio de ICE también es necesario para el transporte de IL-1 $\beta$  a través de la membrana celular.
- 50 ICE (o caspasa-1) es un miembro de una familia de enzimas homólogas llamadas caspasas. Estos homólogos tienen similitudes de secuencia en las regiones del sitio activo de las enzimas. Dichos homólogos (caspasas) incluyen TX (o ICE<sub>rel-II</sub> o ICH-2) (caspasa-4) (Faucheu y col., EMBO J., 14, pág. 1914 (1995); Kamens J., y col., J. Biol. Chem., 270, pág. 15250 (1995); Nicholson y col., J. Biol. Chem., 270, 15870 (1995)), TY (o ICE<sub>rel-III</sub>) (caspasa-5) (Nicholson y col., J. Biol. Chem., 270, pág. 15870 (1995)); ICH-1 (o Nedd-2) (caspasa-2) (Wang, L. y col., Cell, 78, pág. 739 (1994)), MCH-2 (caspasa-6), (Fernandes-Alnemri, T. y col., Cancer Res., 55, pág. 2737 (1995)), CPP32 (o YAMA o apopain) (caspasa-3) (Fernandes-Alnemri, T. y col., J. Biol. Chem., 269, pág. 30761 (1994)); Nicholson, D.W. y col., Nature, 376, pág. 37 (1995)), CMH-1 (o MCH-3) (caspasa-7) (Lippke, y col., J. Biol. Chem., 271(4), págs. 1825-1828 (1996)); Fernandes-Alnemri, T. y col., Cancer Res., (1995)), Mch5 (caspasa-8) (Muzio, M. y col., Cell 85(6), 817-827, (1996)), MCH-6 (caspasa-9) (Duan, H. y col., J. Biol. Chem., 271(34), págs. 16720-16724 (1996)),
- 60 Mch4 (caspasa-10) (Vincenz, C y col., J. Biol. Chem., 272, págs. 6578-6583 (1997); Fernandes-Alnemri, T. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. 93, págs. 7464-7469 (1996)), Ich-3 (caspasa-11) (Wang, S. y col., J. Biol. Chem., 271, págs. 20580-20587 (1996)), mCASP-12 (caspasa-12), (Van de Craen, M. y col., FEBS Lett. 403, págs. 61-69 (1997); Yuan, Y. y Miura, M. Publicación PCT WO95/00160 (1995)), ERICE (caspase-13), (Humke, E.W. y col., J. Biol. Chem., 273 (25) págs. 15702-15707 (1998)) y MICE (caspasa-14) (Hu, S. y col., J. Biol. Chem., 273 (45) págs. 29648-29653
- 65 (1998)).

Cada uno de estos homólogos de ICE, así como la misma ICE, tiene la capacidad de inducir la apoptosis cuando se sobreexpresan en líneas celulares transfectadas. La inhibición de uno o más de estos homólogos con el inhibidor peptídico de ICE Tyr-Val-Ala-Asp-clorometilcetona, produce la inhibición de la apoptosis en células primarias o en 5 líneas celulares. Lazebnik y col., Nature, 371, pág. 346 (1994).

Parece ser que las caspasas también están involucradas en la regulación de la muerte celular programada o la apoptosis. Yuan, J. y col., Cell, 75, págs. 641-652 (1993); Miura, M. y col., Cell, 75, págs. 653-660 (1993); Nett-Fiordalisi, M.A. y col., J. Cell Biochem, 17B, pág. 117 (1993). En particular, se piensa que la ICE o los homólogos de 10 ICE se encuentran asociadas con la regulación de la apoptosis en enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson. Marx, J. y M. Baringa, Science, 259, págs. 760-762 (1993); Gagliardini, V. y col., Science, 263, págs. 826-828 (1994). Recientemente, también se ha demostrado que la inhibición de las caspasas es eficaz en un modelo murino de esclerosis lateral amiotrófica. Li, M. y col.; Science, 288, págs. 335-339 (2000). Las aplicaciones terapéuticas para la inhibición de la apoptosis pueden incluir, entre 15 otras, tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, ictus, infarto de miocardio, atrofia espinal y envejecimiento.

Se ha demostrado que ICE interviene en la apoptosis (muerte celular programada) en ciertos tipos de tejidos. Steller, H., Science, 267, pág. 1445 (1995); Whyte, M. y Evan, G., Nature, 376, pág. 17 (1995); Martin, S.J. y Green, D.R., 20 Cell, 82, pág. 349 (1995); Alnemri, E.S. y col., J. Biol. Chem., 270, pág. 4312 (1995); Yuan, J. Curr. Opin. Cell Biol., 7, pág. 211 (1995). Un ratón transgénico con una alteración del gen ICE es deficiente en la apoptosis mediada por Fas (Kuida, K. y col., Science 267, 2000 (1995)). Esta actividad de ICE es distinta de su función como enzima procesadora para pro-IL-1 $\beta$ . Se puede pensar que en ciertos tipos de tejidos, la inhibición de ICE puede no afectar la secreción de IL-1 $\beta$  madura, pero puede inhibir la apoptosis.

25 La ICE enzimáticamente activa se ha descrito previamente como un heterodímero compuesto por dos subunidades, p20 y p10 (peso molecular de 20 kDa y 10 kDa, respectivamente). Estas subunidades se obtienen a partir de una proenzima de 45 kDa (p45) por medio de una forma p30, a través de un mecanismo de activación que es autocatalítico. Thornberry, N.A. y col., Nature, 356, págs. 768-774 (1992). La proenzima ICE se ha dividido en varios 30 dominios funcionales: un prodominio (p14), una subunidad p22/20, un polipéptido de unión y una subunidad p10. Thornberry y col., anteriormente; Casano y col., Genomics, 20, págs. 474-481 (1994).

Se ha caracterizado p45 de longitud completa por sus secuencias de ADNc y de amino ácidos. Solicitudes de Patente PCT WO 91/15577 y WO 94/00154. También se conocen el ADNc y la secuencia de aminoácidos de p20 y 35 p10. Thornberry y col., anteriormente. También se ha realizado la secuencia y clonación de la ICE murina y de ratas. Tienen una elevada homología con la secuencia aminoacídica y de ácidos nucleicos de la ICE humana. Miller, D.K. y col., Ann. N.Y. Acad. Sci., 696, págs. 133-148 (1993); Molineaux, S.M. y col., Proc. Nat. Acad. Sci., 90, págs. 1809-1813 (1993). Se ha determinado la estructura tridimensional de ICE a una resolución atómica por cristalografía de rayos X. Wilson, K.P., y col., Nature, 370, págs. 270-275 (1994). La enzima activa existe como un tetrámero de dos 40 subunidades p20 y dos p10.

Recientemente, ICE y otros miembros de la familia ICE/CED-3 se han vinculado a la conversión de pro-IL-18 en IL-18 o a la producción de IFN- $\gamma$  *in vivo* (Solicitud PCT PCT/US96/20843, N° de publicación WO 97/22619, que se 45 incorpora en este documento por referencia). La IL-18 se sintetiza *in vivo* como la proteína precursora "pro-IL-18".

La interleucina-18 (IL-18), anteriormente conocida como factor inductor de interferón gamma, (IGIF) es un polipéptido de aproximadamente 18 kDa que estimula la producción de linfocitos T de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ). IL-18 se produce por medio de células Kupffer activadas y macrófagos *in vivo* y se exporta fuera de dichas células tras 50 la estimulación de endotoxinas. Al igual que IL-1 $\beta$ , IL-18 se sintetiza como una molécula precursora biológicamente inactiva carente de un único péptido, que requiere escisión en una molécula madura y activa por la enzima convertidora de IL-1 $\beta$ . Dinerello, C.A. Methods, 19, págs. 121-132 (1999). Por lo tanto, un compuesto que disminuye la producción de IL-18 sería útil como un inhibidor de la estimulación de dichos linfocitos T que, a su vez, reduciría los niveles de producción de IFN- $\gamma$  por medio de esas células.

55 IFN- $\gamma$  es una citocina con efectos inmunomoduladores sobre una diversidad de células inmunes. En particular, IFN- $\gamma$  está implicada en la activación de macrófagos y en la selección de linfocitos Th1 (F. Belardelli, APMIS, 103, pág.161 (1995)). IFN- $\gamma$  ejerce sus efectos, en parte por medio de la modulación de la expresión de genes a través de las rutas STAT e IRF (C Schindler y J. E. Darnell, Ann. Rev. Biochem., 64, pág. 621 (1995); T. Taniguchi, J. Cancer Res. Clin. Oncol., 121, pág. 516 (1995)).

60 Los ratones que carecen de IFN- $\gamma$  o de su receptor, tienen múltiples defectos en la función de células inmunes y son resistentes al choque endotóxico (S. Huang y col., Science, 259, pág. 1742 (1993); D. Dalton y col., Science, 259, pág. 1739 (1993); B. D. Car y col., J. Exp. Med., 179, pág. 1437 (1994)). Junto con IL-12, IL-18 parece ser un potente inductor de la producción de IFN- $\gamma$  por medio de los linfocitos T (H. Okamura y col., Infection and Immunity, 63, pág. 3966 (1995); H. Okamura y col., Nature, 378, pág. 88 (1995); S. Ushio y col., J. Immunol., 156, página 4274

(1996)).

Se ha demostrado que IFN- $\gamma$  contribuye a la patología asociada con una diversidad de enfermedades y trastornos inflamatorios, infecciosos y autoinmunes. Por lo tanto, los compuestos que tienen la capacidad de disminuir la producción de IFN- $\gamma$  serían útiles para mejorar los efectos de las patologías relacionadas con el IFN- $\gamma$ .

Por consiguiente, las composiciones y los procedimientos que tienen la capacidad de regular la conversión de pro-IL-18 a IL-18 serán útiles para disminuir la producción de IL-18 y de IFN- $\gamma$  *in vivo* y, por lo tanto, para mejorar los efectos perjudiciales de estas proteínas que contribuyen a trastornos y enfermedades en los seres humanos.

10

Los inhibidores de caspasa representan una clase de compuestos útiles para controlar la inflamación o la apoptosis, o ambas. Se han descrito péptidos y inhibidores peptidil de ICE (Solicitudes de Patente PCT WO 91/15577, WO 93/05071, WO 93/09135, WO 93/12076, WO 93/14777, 1 WO 93/16710, WO 95/35308, WO 96/30395, WO 96/33209 y WO 98/01133; Solicitudes de Patentes Europeas 503 561, 547 699, 618 223, 623 592 y 623 606; y las Patentes de Estados Unidos N° 5.434.248, 5.710.153, 5.716.929 y 5.744.451. Se ha observado que dichos inhibidores peptidil de ICE bloquean la producción de IL-1 $\beta$  madura en un modelo de inflamación en ratón (véase a continuación) y suprimen el crecimiento de células de leucemia *in vitro* (Estrov y col., Blood, 84, 380a (1994)). Sin embargo, debido a su naturaleza peptídica, dichos inhibidores típicamente se caracterizan por presentar propiedades farmacológicas indeseables, tales como una escasa penetración celular y actividad celular, una escasa absorción por vía oral, inestabilidad y un rápido metabolismo. Plattner, J.J. y D.W. Norbeck, en Drug Discovery Technologies, C.R. Clark y W. H. Moos, Eds. (Ellis Horwood, Chichester, Inglaterra, 1990), págs. 92-126. Estas propiedades han dificultado su desarrollo para lograr medicamentos eficaces.

15

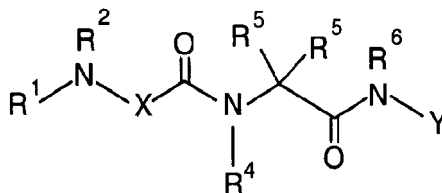
20

También se ha indicado que los compuestos no peptidilos inhiben la ICE *in vitro*. Solicitud de Patente PCT WO 95/26958; Patente de Estados Unidos 5.552.400; Dolle y col., J. Med. Chem., 39, págs. 2438-2440 (1996). Sin embargo, no queda claro si estos compuestos tienen los perfiles farmacológicos adecuados como para ser terapéuticamente útiles.

25

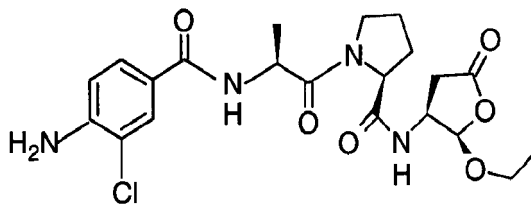
El documento WO 99/47545 describe una nueva clase de inhibidores de caspasa los cuales se indica que poseen un perfil favorable *in vivo*. Estos inhibidores se representan por la fórmula:

30



en la que X, Y, R<sup>1-6</sup> son diversos sustituyentes. Entre los muchos ejemplos de esta clase de inhibidores, se describe la siguiente estructura:

35



98d

Como se conoce en la técnica, la biodisponibilidad de los compuestos dentro de una clase estructural es difícil de predecir. Las modificaciones estructurales relativamente de poca importancia, con frecuencia tienen un gran impacto en la absorción de un compuesto, su nivel de concentración en sangre y/o su semivida. Por ejemplo, dichas variaciones en la biodisponibilidad pueden observarse a partir de los datos que se encuentran en el documento WO 99/47545. En consecuencia, los compuestos estructuralmente relacionados que tienen una potencia muy buena *in vitro* pueden presentar variaciones con respecto a su eficacia terapéutica.

40

Aunque se ha logrado un progreso en la mejora de la biodisponibilidad de los inhibidores de ICE, continúa la

45

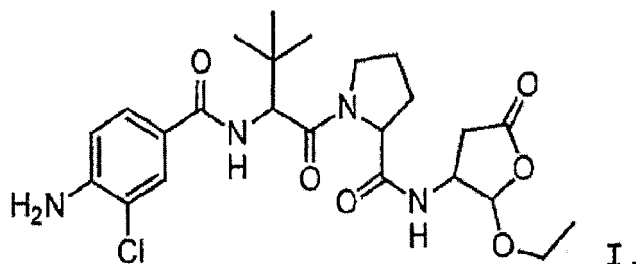
necesidad de identificar y desarrollar compuestos que puedan inhibir de manera eficaz las caspasas que tengan una actividad *in vivo* mejorada. Dichos compuestos serían útiles como agentes para la prevención y el tratamiento de formas crónicas y agudas de enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ , así como en enfermedades inflamatorias, autoinmunes, óseo destructivas, proliferativas, infecciosas o degenerativas.

5

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Esta invención proporciona un nuevo compuesto de un profármaco inhibidor de ICE con una biodisponibilidad sorprendentemente buena en mamíferos. El compuesto se representa por la fórmula I:

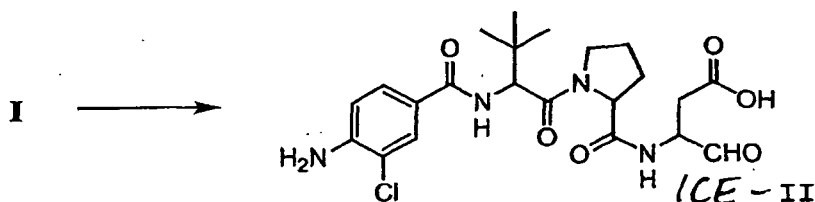
10



El compuesto I puede usarse sólo o en combinación con otros agentes terapéuticos o profilácticos, tales como antibióticos, inmunomoduladores u otros agentes antiinflamatorios, para el tratamiento o prevención de enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ . Esta invención también se refiere a sales del compuesto.

15

El propio compuesto I es un profármaco que experimenta la bioconversión en un inhibidor de ICE activo II:



20

El compuesto I tiene una mejor actividad *in vivo* tras la administración oral o intravenosa que la forma de partida o activa del fármaco. La forma activa, aldehído aspártico ICE-II, muestra una actividad *in vivo* menor al valor óptimo, principalmente debido a su escasa biodisponibilidad y, por lo tanto, no es adecuada para un uso terapéutico directo. Generalmente, una escasa biodisponibilidad puede originarse por cualquiera de las siguientes razones: la forma activa no es estable en el intestino del animal después de su ingestión, no se absorbe adecuadamente a través del intestino y/o no se administra correctamente al compartimento biológico (por ejemplo, al cerebro o al sistema linfático) al que está destinado. Mientras que el profármaco I muestra una biodisponibilidad mejorada con respecto a su forma activa II, esta invención no se limita a ningún mecanismo en particular mediante el cual la biodisponibilidad mejore.

25

30

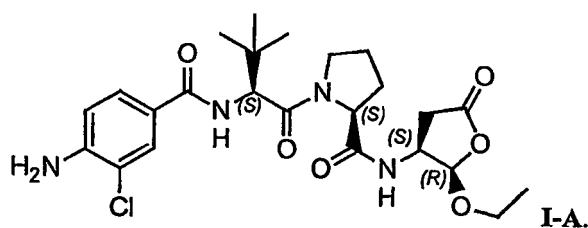
Los Solicitantes estudiaron varios inhibidores de profármacos de ICE, incluyendo los ejemplos enumerados en el documento WO 99/47545 que se ha mencionado anteriormente. La biodisponibilidad se determinó cuantificando la cantidad de inhibidor de ICE en el plasma de ratas después de una administración oral, como se describe a continuación. Se descubrió que el compuesto I tenía una biodisponibilidad inesperadamente mejorada con respecto a otros profármacos inhibidores de ICE probados, incluyendo algunos que se encontraban estrechamente relacionados en cuanto a su estructura.

35

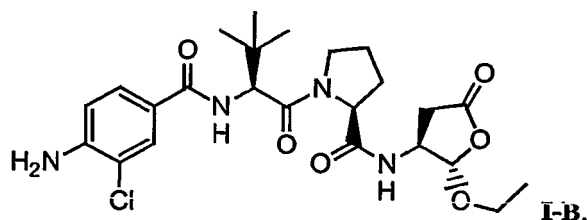
La estructura del compuesto I representado en este documento pretende incluir todas las formas estereoquímicas del compuesto; es decir, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico. Por lo tanto, isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas diastereoméricas del presente compuesto están dentro del alcance de la invención. Un isómero preferido es un compuesto I-A que tiene la configuración "S" en el carbono que lleva el grupo terc-butilo, tiene la configuración "S" en la posición 2 del anillo de prolina, tiene la configuración "S" en la posición 3 del anillo de furanona y tiene la configuración "R" en la posición 2-etoxi del anillo de furanona, como se muestra a continuación:

40

45



Otro isómero preferido es el compuesto **I-B**:

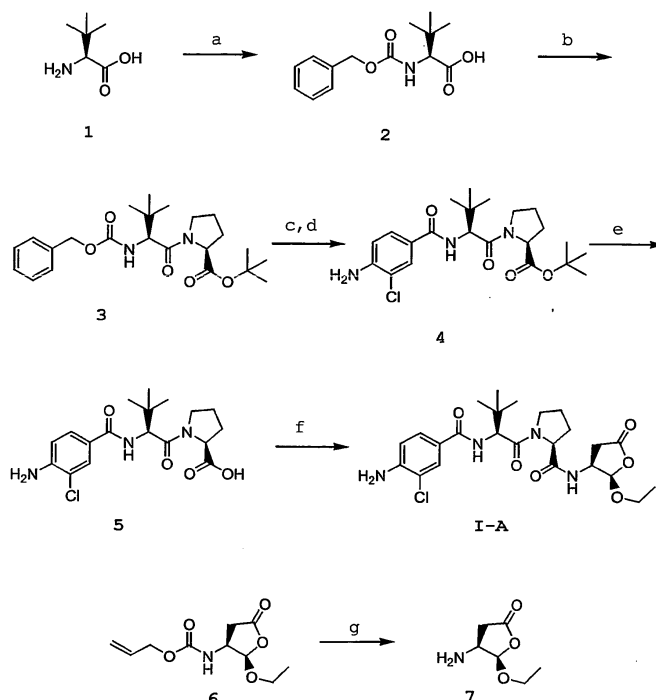


5

A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en este documento también pretenden incluir compuestos que difieren solamente en la presencia de uno o más átomos enriquecidos con isótopos. Por ejemplo, están dentro del alcance de esta invención los compuestos que tienen las presentes estructuras, excepto por el  
10 reemplazo de un hidrógeno por medio de un deuterio o tritio, o el reemplazo de un carbono por medio de un carbono enriquecido con  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$ .

Los compuestos de esta invención pueden prepararse, en general, mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica para los compuestos análogos, como se ilustra por el esquema general que se encuentra a  
15 continuación y por los ejemplos preparativos que se encuentran también a continuación:

Esquema Sintético para el Compuesto I-A

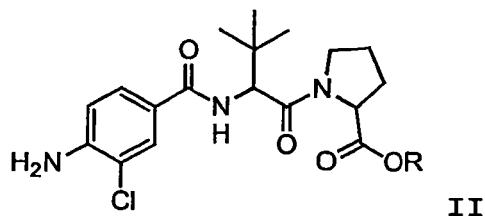


20

Reactivos

a) Cbz-Cl,  $\text{NaHCO}_3$ ; b) H-Pro-OtBu, EDC, HOBT; c) Pd al 10 %/C,  $\text{H}_2$ ; d) ácido 4-amino-clorobenzoico, EDC, DIPEA; e) TFA; f) 7, EDC, HOBT, DIPEA; g) DMBA,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ .

Se cree que algunos de los intermedios que son útiles en la elaboración del compuesto I son novedosos. Por consiguiente, una realización de esta invención se refiere a los compuestos representados por la fórmula II:

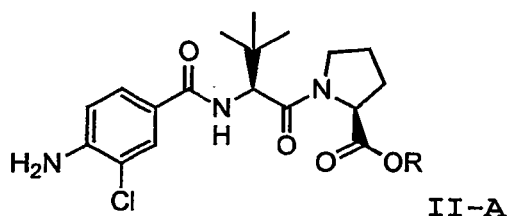


5

en la que R se selecciona entre hidrógeno o un radical inorgánico, preferiblemente hidrógeno o un alquilo C<sub>1-12</sub>, mucho más preferiblemente hidrógeno o *tert*-butilo. Se entiende que el resto del radical orgánico es un grupo que no presenta reactividad hacia los demás grupos funcionales del compuesto II.

10

Se entiende que el compuesto II incluye cualquiera de los cuatro estereoisómeros posibles, así como mezclas de los mismos. Un isómero preferido de II se representa por la fórmula II-A:



15

en la que R es como se ha descrito anteriormente.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un transportador farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones pueden comprender, opcionalmente, un agente terapéutico adicional. Dichos agentes incluyen, pero sin limitación, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteinasas de matriz, un inhibidor de lipoxigenasa, un antagonista de citocina, un inmunosupresor, un agente anticanceroso, un agente antivírico, una citocina, un factor de crecimiento, un inmunomodulador, una prostaglandina o un compuesto antihiperproliferación vascular.

25 La expresión "transportador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un transportador no tóxico que puede administrarse a un paciente, junto con un compuesto de esta invención, y que no destruye la actividad farmacéutica del mismo.

Los transportadores farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de esta invención incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas de suero tales como albúmina de suero humano, sustancias tamponantes, tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato potásico, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrógeno fosfato disódico, hidrógeno fosfato potásico, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias con base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polióxipropileno, grasa de lana y sistemas de administración de fármacos autoemulsificantes (SEDDS), tales como  $\alpha$ -tocoferol, succinato de polietilenglicol 1000 u otras matrices de administración poliméricas similares.

En la composición farmacéutica que comprende solamente un compuesto de fórmula I como el componente activo, los procedimientos de administración de estas composiciones pueden comprender adicionalmente la etapa de administrar al sujeto un agente adicional. Dichos agentes incluyen, pero sin limitación, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteinasas de matriz, un inhibidor de lipoxigenasa, un antagonista de citocina, un inmunosupresor, un agente anticanceroso, un agente antivírico, una citocina, un factor de crecimiento, un inmunomodulador, una prostaglandina o un compuesto antihiperproliferación vascular.

45

La expresión "cantidad farmacéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz en el tratamiento o mejora de las enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$  en un paciente. La expresión "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz en la prevención o sustancialmente la disminución de enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$  en un paciente.

Los compuestos de esta invención pueden emplearse de forma convencional para controlar los niveles de IL-18 y IFN- $\gamma$  *in vivo* y para el tratamiento de enfermedades o reducir el avance o la gravedad de los efectos que están mediados por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ . Dichos procedimientos de tratamiento, sus niveles de dosificación y sus requisitos, pueden seleccionarse por los expertos en la técnica a partir de los procedimientos y técnicas disponibles.

Por ejemplo, un compuesto de esta invención puede combinarse con un adyuvante farmacéuticamente aceptable para su administración a un paciente que padece una enfermedad mediada por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ , en una forma farmacéuticamente aceptable y en una cantidad eficaz para disminuir la gravedad de esa enfermedad.

Como alternativa, los compuestos de esta invención pueden usarse en composiciones y procedimientos para el tratamiento o protección de individuos frente a enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$  en períodos de tiempo prolongados. Los compuestos pueden emplearse en dichas composiciones solos o junto con otros compuestos de esta invención de una forma coherente con la utilización convencional de inhibidores de enzimas en composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, un compuesto de esta invención puede combinarse con adyuvantes farmacéuticamente aceptables, que se emplean convencionalmente en vacunas y se administran en cantidades profilácticamente eficaces para proteger a los individuos durante un período de tiempo prolongado frente a enfermedades mediadas por IL-1-, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ .

Los compuestos de fórmula I también pueden coadministrarse con otros inhibidores de caspasas o ICE para incrementar el efecto de terapia o profilaxis frente a diversas enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ .

Además, los compuestos de esta invención pueden usarse en combinación con agentes antiinflamatorios convencionales o con inhibidores de metaloproteinasas de matriz, inhibidores de lipoxigenasa y antagonistas de citocinas diferentes de IL-1 $\beta$ .

Los compuestos de esta invención también pueden administrarse en combinación con inmunomoduladores (por ejemplo, bropirimina, anticuerpo anti-interferón alfa humano, IL-2, GM-CSF, encefalin metionina, interferón-alfa, ditiocarbamato de dietilo, factor de necrosis tumoral, naltrexona y EPO), con prostaglandinas o con agentes antivíricos (por ejemplo, 3TC, polisacáridos polisulfatados, ganciclovir, ribavirina, aciclovir, interferón alfa, trimetotrexato y fanciclovir) o profármacos de estos compuestos o de compuestos relacionados para prevenir o combatir los síntomas de enfermedades mediadas por IL-1-, tales como la inflamación.

Cuando los compuestos de esta invención se administran en terapias de combinación junto con otros agentes, pueden administrarse secuencialmente o al mismo tiempo al paciente. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas o profilácticas de acuerdo con esta invención, comprenden una combinación de un compuesto de fórmula I y otro agente terapéutico o profiláctico.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, por pulverización de inhalación, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. Se prefiere la administración oral. Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden contener cualquier transportador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable no tóxico. En algunos casos, el pH de la formulación puede ajustarse con ácidos, bases o tamponantes farmacéuticamente aceptables para mejorar la estabilidad del compuesto formulado o su forma de administración. El término parenteral, como se usa en esta invención, incluye técnicas de administración por inyección o infusión subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intralesional e intracraneal.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de preparaciones inyectables estériles, por ejemplo, en forma de una suspensión estéril inyectable acuosa u oleaginosa. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con las técnicas conocidas en la técnica usando agentes dispersantes o humectantes adecuados (tales como, por ejemplo, Tween 80) y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable, estéril, en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable, no tóxico, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran manitol, agua, solución de Ringer y una solución isotónica de cloruro sódico. Además, los aceites fijos estériles se emplean de forma convencional como disolventes o medios de suspensión. Para este fin, puede usarse cualquier aceite fijo insípido, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, debido a que son aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como por ejemplo, el aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga, tal como los descritos en la Farmacopea Helvética, o un alcohol similar.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por vía oral en cualquier forma farmacéutica oralmente aceptada incluyendo, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos y suspensiones y soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para su uso oral, los transportadores que se usan comúnmente



incluyen lactosa y almidón de maíz. También se añaden típicamente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsulas, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando las suspensiones y las soluciones acuosas y el propilenglicol se administran por vía oral, el ingrediente activo se combina con agentes emulsionantes y agentes de suspensión. Si se desea, pueden añadirse determinados agentes edulcorantes y/o saporíferos y/o colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden administrarse en forma de supositorios para su administración rectal. Estas composiciones pueden prepararse mezclando un compuesto de esta invención con un excipiente no irritante, adecuado que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar los componentes activos. Dichos materiales incluyen, pero sin limitación, manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicol.

La administración tópica de las composiciones farmacéuticas de esta invención es especialmente útil cuando el tratamiento deseado involucra áreas u órganos que son fácilmente accesibles por medio de una aplicación tópica. Para una aplicación tópica a la piel, la composición farmacéutica deberá estar formulada con un ungüento adecuado que contenga los componentes activos en suspensión o en disolución en un transportador. Los transportadores para la administración tópica de los compuestos de esta invención incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, un compuesto de polioxietileno polioxipropileno, una cera emulsificante y agua. Como alternativa, la composición farmacéutica puede formularse con una loción o crema adecuada que contenga el compuesto activo en suspensión o en disolución en un transportador. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua. Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden aplicarse por vía tópica al tracto intestinal bajo por medio de una formulación en forma de supositorio o una formulación en forma de un enema adecuado. Los parches transdérmicos de administración por vía tópica también se incluyen en esta invención.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por medio de un aerosol nasal o por inhalación. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica de la fórmula farmacéutica y pueden prepararse en forma de soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/o otros agentes solubilizantes o dispersantes conocidos en la técnica.

Los niveles de dosificación de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, preferiblemente entre 0,5 y aproximadamente 75 mg/kg de peso corporal por día y mucho más preferiblemente entre aproximadamente 1 y 50 mg/kg de peso corporal por día del compuesto del ingrediente activo, son útiles en una monoterapia para la prevención y el tratamiento de enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ , incluyendo uveitis, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, trastornos óseo destructivos, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas, enfermedades degenerativas, enfermedades necrosantes, peritonitis inflamatoria, osteoartritis, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, asma, síndrome de distrés respiratorio adulto, glomerulonefritis, artritis reumatoide, lupus eritomatoso sistémico, esclerodema, tiroiditis crónica, enfermedad de Grave, gastritis autoinmune, diabetes mellitus (Tipo I) dependiente de insulina, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, hepatitis activa crónica, miastenia gravis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis atópica, enfermedad de injerto contra huésped, osteoporosis, trastorno óseo relacionado con mieloma múltiple, leucemias y trastornos relacionados, síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, melanoma metastático, sarcoma de Kaposi, mieloma múltiple, sepsis, choque séptico, Shigelosis, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, isquemia cerebral, isquemia miocárdica, infarto de miocardio, fallo cardíaco congestivo, enfermedad de Huntington, aterosclerosis, atrofia muscular espinal, esclerosis múltiple, encefalitis relacionada con SIDA, encefalitis relacionada con VIH, envejecimiento, alopecia, lesión neurológica debido a ictus, colitis ulcerosa, hepatitis infecciosa, diabetes juvenil, liquen plano, dermatomiositis aguda, eczema, cirrosis primaria, uveitis, enfermedad de Behcet, enfermedad atópica de la piel, aplasia de glóbulos rojos puros, anemia aplásica, esclerosis lateral amiotrófica, síndrome nefrótico y enfermedades sistémicas o enfermedades con efectos localizados en el hígado u otros órganos que tienen un componente inflamatorio o apoptótico ocasionado por el exceso de ingestión alcohólica en la dieta o por virus, tales como VHB, VHC, VHG, virus de la fiebre amarilla, virus de la fiebre del dengue y el virus de la encefalitis Japonesa.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas de esta invención se administrarán de aproximadamente 1 a 5 veces por día o como alternativa, en forma de una infusión continua. Dicha administración puede usarse como una terapia crónica o aguda. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con los materiales transportadores para producir una forma farmacéutica única, variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Una preparación típica contendrá de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 95 % del compuesto activo (p/p). Preferiblemente, dichas preparaciones contienen de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 80 % del compuesto activo.

Cuando las composiciones de esta invención comprenden una combinación de un compuesto de fórmula I y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional deberán encontrarse presentes en niveles de dosificación de entre aproximadamente el 10 % al 80 % de la dosis

administrada normalmente en un régimen de monoterapia.

Tras la mejora de la afección de un paciente, puede administrarse una dosis de mantenimiento de un compuesto, composición o una combinación de esta invención, en caso de que sea necesario. Posteriormente, la dosis o frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse en función de los síntomas, a un nivel en el que se sostenga la condición de mejoría. Cuando los síntomas se han aliviado al nivel deseado, el tratamiento debe de cesar. Sin embargo, los pacientes pueden necesitar un tratamiento intermitente en una base a largo plazo en caso de cualquier recurrencia o síntomas de enfermedad.

10 Como apreciarán los expertos en la técnica, pueden requerirse dosis más bajas o más elevadas de las que se han enunciado anteriormente. La dosificación específica y los regímenes de tratamiento específicos para cualquier paciente en particular, dependerán de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, estado general de salud, sexo, dieta, tiempo de administración, tasa de excreción, combinación de fármacos, la gravedad y fase de la enfermedad y la disposición del paciente a la enfermedad y el criterio del médico tratante.

15 Las enfermedades mediadas por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse con los compuestos de esta invención incluyen, pero sin limitación, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas y enfermedades degenerativas. Las enfermedades mediadas por apoptosis que pueden tratarse o prevenirse con los compuestos de esta invención incluyen enfermedades degenerativas.

Las enfermedades inflamatorias mediadas por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse incluyen, pero sin limitación, osteoartritis, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, asma, síndrome de distrés respiratorio adulto. Preferiblemente, la enfermedad inflamatoria es osteoartritis o pancreatitis aguda.

25 Las enfermedades autoinmunes mediadas por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse incluyen, pero sin limitación, glomerulonefritis, artritis reumatoide, lupus eritomatoso sistémico, esclerodema, tiroiditis crónica, enfermedad de Grave, gastritis autoinmune, diabetes mellitus (Tipo I) dependiente de insulina, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, hepatitis activa crónica, miastenia gravis, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis atópica y la enfermedad de injerto contra huésped. Preferiblemente, la enfermedad autoinmune es artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, psoriasis o dermatitis atópica.

30 Los trastornos óseo destructivos mediados por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse incluyen, sin limitación, osteoporosis y trastorno óseo relacionado con mieloma múltiple.

Las enfermedades proliferativas mediadas por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse incluyen, pero sin limitación, leucemias y trastornos relacionados, tales como síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, melanoma metastático, sarcoma de Kaposi y mieloma múltiple.

40 Las enfermedades infecciosas mediadas por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse incluyen, pero sin limitación, sepsis, choque séptico y Shigelosis.

Las enfermedades degenerativas o necrosantes mediadas por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse por los compuestos de esta invención incluyen, pero sin limitación, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, isquemia cerebral e isquemia miocárdica. Preferiblemente, la enfermedad degenerativa es enfermedad de Alzheimer.

50 Las enfermedades degenerativas mediadas por IL-1 o apoptosis que pueden tratarse o prevenirse con los compuestos de esta invención incluyen, pero sin limitación, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, isquemia cerebral, isquemia miocárdica, atrofia muscular espinal, esclerosis múltiple, encefalitis relacionada con SIDA, encefalitis relacionada con VIH, envejecimiento, alopecia, lesión neurológica debida a ictus.

Otras enfermedades que tienen un componente inflamatorio o apoptótico pueden tratarse o prevenirse con los compuestos de esta invención. Dichas enfermedades pueden ser enfermedades sistémicas o enfermedades con efectos localizados en el hígado u otros órganos y pueden estar originadas, por ejemplo, por una excesiva ingestión alcohólica en la dieta, o bien por virus, tales como VHB, VHC, VHG, virus de la fiebre amarilla, virus de la fiebre del dengue y el virus de la encefalitis japonesa.

60 Las enfermedades mediadas por IL-18 o IFN- $\gamma$  que pueden tratarse o prevenirse por los compuestos de esta invención incluyen, pero sin limitación, afecciones inflamatorias, infecciosas, autoinmunes, proliferativas, neurodegenerativas o necrosantes.

Las enfermedades inflamatorias mediadas por IL-18 o IFN- $\gamma$  que pueden tratarse o prevenirse incluyen, pero sin limitación, osteoartritis, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, asma, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, isquemia cerebral, isquemia miocárdica y síndrome de distrés

respiratorio adulto. Preferiblemente, la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, hepatitis o el síndrome de distrés respiratorio adulto.

Las enfermedades infecciosas mediadas por IL-18 o IFN- $\gamma$  que pueden tratarse o prevenirse incluyen, pero sin limitación, hepatitis infecciosa, sepsis, choque séptico y Shigelosis.

Las enfermedades autoinmunes mediadas por IL-18 o IFN- $\gamma$  que pueden tratarse o prevenirse incluyen, pero sin limitación, glomerulonefritis, lupus eritematoso sistémico, esclerodema, tiroiditis crónica, enfermedad de Grave, gastritis autoinmune, diabetes mellitus (Tipo I) dependiente de insulina, diabetes juvenil, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, miastenia gravis, esclerosis múltiple, psoriasis, liquen plano, enfermedad del injerto contra huésped, dermatomiositis grave, eczema, cirrosis primaria, hepatitis, uveitis, enfermedad de Behcet, enfermedad atópica de la piel, aplasia de glóbulos rojos puros, anemia aplásica, esclerosis lateral amiotrófica y síndrome nefrótico. Preferiblemente, la enfermedad autoinmune es glomerulonefritis, diabetes mellitus (Tipo I) dependiente de insulina, diabetes juvenil, psoriasis, enfermedad del injerto contra huésped o hepatitis.

Las enfermedades o afecciones más preferidas que pueden tratarse o prevenirse incluyen: artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, peritonitis inflamatoria, esclerosis lateral amiotrófica, choque séptico, pancreatitis, lesión cerebral traumática, rechazo al trasplante de órganos, osteoporosis, osteoartritis, asma, uveitis, psoriasis, enfermedad de Alzheimer, infarto de miocardio, fallo cardiaco congestivo, enfermedad de Huntington, aterosclerosis, dermatitis atópica o leucemias y trastornos relacionados, tales como síndrome mielodisplásico o mieloma múltiple.

Por consiguiente, una realización de esta invención proporciona un método para el tratamiento o prevención de enfermedades mediadas por IL-1 o apoptosis en un sujeto que comprende la etapa de administrar al sujeto cualquier compuesto, composición farmacéutica o una combinación descrita en este documento y un transportador farmacéuticamente aceptable.

Otra realización de esta invención proporciona un procedimiento para disminuir la producción de IL-18 en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto cualquier compuesto, composición farmacéutica o una combinación descrita en este documento y un transportador farmacéuticamente aceptable.

Otra realización más de esta invención proporciona un procedimiento para disminuir la producción de IFN- $\gamma$  en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto cualquier compuesto, composición farmacéutica o una combinación descrita en este documento y un transportador farmacéuticamente aceptable.

Aunque esta invención se centra en el uso de los compuestos descritos en este documento para la prevención y el tratamiento de enfermedades mediadas por IL-1, apoptosis, IL-18 o IFN- $\gamma$ , los compuestos de esta invención también pueden usarse como agentes inhibidores para otras proteasas de cisteína.

Los compuestos de esta invención también son útiles como reactivos comerciales que se unen de forma eficaz a caspasas u otras proteasas de cisteína incluyendo, pero sin limitación, ICE. Como reactivos comerciales, los compuestos de esta invención, y sus derivados, pueden usarse para bloquear la proteólisis de un péptido diana en ensayos bioquímicos o celulares para ICE y homólogos de ICE, o puede derivarse con el fin de unir una resina estable como un sustrato unido para su uso en aplicaciones de cromatografía de afinidad.

Estos y otros usos que caracterizan a los inhibidores de proteasa cisteína comerciales serán evidentes para los expertos en la técnica.

Con la finalidad de que esta invención se comprenda más completamente, se exponen los siguientes ejemplos.

#### Ejemplos Sintéticos

Preparación de (2-etoxi-5-oxo-tetrahydro-furan-3-ilo)-amida del ácido 1-[2-(4-amino-3-cloro-benzoilamino)-3,3-dimetil-butiril]-pirrolidina-2-carboxílico (I-A)

#### Ácido 2-benciloxycarbonilamino-3,3-dimetil-butírico (2)

A una solución de L-*terc*-leucina (1) (50,0 g, 38,0 mmoles) y NaHCO<sub>3</sub> (96,0 g, 114 mmoles) en hielo (500 g) y agua (500 ml) se le añadió cloroformiato de bencilo (65,0 ml, 74,0 mmoles) y la reacción se agitó a una temperatura de 0 °C durante 3 horas y después a temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,1 N hasta que la capa oleosa se disolvió y la solución se lavó con EtOAc al 10 % en hexanos (2 x 500 ml). La fase acuosa helada se acidificó a un pH de 1 usando HCl 12 N y después se extrajo usando EtOAc (3 x 350 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del título en la forma de un aceite incoloro (82,4 g, rendimiento del 81,5 %): <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1,02 (s, 9H), 4,22 (d, 1H), 5,10-5,14 (m, 2H), 5,31 (d, 1H), 7,26-7,37 (m, 5H).

Éster *terc*-butílico del ácido 1-(2-benciloxycarbonilamino-3,3-dimetil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (3)

A una solución de **2** (6,01 g, 2,0 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 ml) y DMF anhidra (dimetilformamida) (10 ml) a 0 °C se le añadió HOBT (3,16 g, 2,0 mmoles), EDC (clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil-3-etil-carbodiimida) (7,19 g, 4,0 mmoles) y éster *terc*-butílico de L-prolina (4,22 g, 2,0 mmoles). La solución se agitó a 0 °C durante 10 minutos y después a temperatura ambiente durante 5 horas. Los disolventes se evaporaron al vacío y el aceite resultante se disolvió en EtOAc, que se lavó con H<sub>2</sub>O (3 x 200 ml) y salmuera (200 ml). La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó para producir el producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando hexanos/EtOAc (95/5 a 80/20 %) proporcionó el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (8,30 g, rendimiento del 87,5 %): <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,04 (s, 9H), 1,45 (s, 9H), 1,89-1,96 (m, 2H), 2,02-2,05 (m, 1H), 2,18-2,22 (m, 1H), 3,65-3,69 (m, 1H), 3,79-3,82 (m, 1H), 4,34-4,37 (m, 2H), 5,03-5,19 (m, 2H), 5,53 (d, 1H), 7,26-7,38 (5H).

15 Síntesis de éster *terc*-butílico del ácido 1-[2-(4-amino-3-cloro-benzoilamino-3,3-dimetil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (4)

A una solución de **3** (19,0 g, 45,4 mmoles) en MeOH (200 ml) se le añadió Pd activado al 10 % sobre C (2,0 g) en EtOAc (50 ml) y la reacción se agitó en una atmósfera de H<sub>2</sub> durante 18 horas. La solución se filtró a través de Celite y el disolvente se evaporó para producir un aceite viscoso e incoloro. La amina libre se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco/DMF (2:1, 102 ml), la solución se enfrió a 0 °C y se añadieron ácido 4-amino-3-clorobenzoico (7,79 g, 45,4 mmoles) y DIPEA (7,90 ml, 45,4 mmoles). La mezcla se agitó durante 10 minutos y después se añadió EDC (11,32 g, 59,1 mmoles). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos y después a la temperatura ambiente durante 18 horas. La solución se diluyó con EtOAc (300 ml), se lavó con NaHSO<sub>4</sub> 0,5 N (2 x 250 ml), NaHCO<sub>3</sub> al 10 % (2 x 250 ml), NaCl saturado (150 ml), se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se evaporó a sequedad. La cromatografía ultrarrápida en columna sobre gel de sílice usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, (99/1 a 98/2 %) produjo el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (19,25 g, rendimiento del 97 %): <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,12 (s, 9H), 1,48 (s, 9H), 1,85-1,99 (m, 2H), 2,01-2,13 (m, 1H), 2,18-2,29 (m, 1H), 3,63-3,73 (m, 1H), 3,84-3,93 (m, 1H), 4,30-4,41 (m, 1H), 4,86 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,73 (s, 1H). HPLC analítica (columna ciano): 12.59 minutos CL-EM (EN+) m/e = 438,5 (M+H).

30 Síntesis de ácido 1-[2-(4-amino-3-cloro-benzoilamino-3,3-dimetil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (5)

A una solución de **4** (15,9 g, 36,6 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 ml) se le añadió TFA (ácido trifluoroacético) (30 ml) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas en una atmósfera de N<sub>2</sub>. La reacción se transfirió a un vaso de precipitados (1 l) y se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60 ml). A la solución a 0 °C se le añadió NaHCO<sub>3</sub> sólido (39 g, 46 mmoles) y se agitó durante 15 minutos antes repartirse entre EtOAc (300 ml) y H<sub>2</sub>O (300 ml). Después de la extracción, la capa acuosa se acidificó a un pH de 4-5 y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó a sequedad para producir **5** en forma de un sólido de color blanco (14,0 g, rendimiento cuantitativo): <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,08 (s, 9H), 1,97-2,22 (m, 3H), 2,29-2,41 (m, 1H), 3,71-3,78 (m, 1H), 3,90-3,98 (m, 1H), 4,55-4,62 (m, 1H), 4,86 (d, 1H), 6,64 (d, 1H), 6,74 (d, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,74 (s, 1H). HPLC analítica (columna ciano): 8,24 minutos CL-EM (EN+) m/e = 382,4 (M+H).

45 Síntesis de (2-etoxi-5-oxo-tetrahidrofuran-3-il)-amida del ácido 1-[2-(4-amino-3-cloro-benzoilamino)-3,3-dimetil-butiril]-pirrolidin-2-carboxílico (I-A)

A una solución de **6** (5,05 g, 22,0 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml), a una temperatura de 0 °C se le añadieron ácido 1,3-dimetilbarbitúrico (DMBA) (3,78 g, 24,2 mmoles) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,15 g, 0,13 mmoles). Después de 10 minutos, se añadió una solución de **5** (8,40 g, 22,0 mmoles) en DMF (25 ml) seguida de diisopropiltilamina (DIPEA) (7,66 ml, 44,1 mmoles), (2,98 g, 22,0 mmoles) y EDC (5,06 g, 26,4 mmoles). La solución se agitó a una temperatura de 0 °C durante 10 minutos y después a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se diluyó con EtOAc (200 ml), se lavó con NaHSO<sub>4</sub> 0,5 N (2 x 200 ml), NaHCO<sub>3</sub> al 10 % (2 x 200 ml), NaCl saturado (1 x 150 ml), se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó a sequedad. La cromatografía ultrarrápida en columna sobre gel de sílice usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, (99/1 a 98/2 %) produjo el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (11,20 g, rendimiento del 77 %): <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,08 (s, 9H), 1,27 (t, 3H), 1,85-1,99 (m, 1H), 2,00-2,06 (m, 1H), 2,07-2,18 (m, 1H), 2,32-2,48 (m, 2H), 2,78-2,89 (m, 1H), 3,62-3,76 (m, 2H), 3,82-3,96 (m, 2H), 4,39 (s, 1H), 4,54-4,60 (m, 1H), 4,62-4,76 (m, 1H), 4,85 (d, 1H), 6,57 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,72 (s, 1H). HPLC analítica (columna ciano): 13.10 minutos CL-EM (EN<sup>+</sup>) m/e = 509,4 (M+H), p.f. = 96-99 °C

60 Estudios de la Farmacocinética por Vía Oral

Se anestesiaron ratas macho Sprague-Dawley (Harlan, Indianápolis, IN, 300-350 g) mediante una inyección intramuscular de una mezcla de cetamina/rompun. Se insertó una cánula PE-50 en la arteria carótida derecha para tomar muestras de sangre arterial. Se dejó que las ratas se recuperaran de la cirugía durante una noche (16 horas) antes de que se utilizaran en el estudio. Los compuestos de ensayo se administraron por vía oral a 50 mg/kg de propilenglicol al 100 % (PG) a un volumen de dosificación de 10 ml/kg. Las muestras de sangre (~0,30 ml) se tomaron después de 0,25, 0,50, 1,0, 1,5, 2, 3, 4, 6 y 8 horas de la administración de la dosis, el plasma se separó

por centrifugación y se almacenó a una temperatura de -80 °C dejando pendiente el análisis. La cuantificación de las muestras de plasma se realizó usando un gradiente HPLC/EM/EM similar al que se detalla a continuación:

Procedimiento HPLC/EM/EM para la cuantificación de inhibidores de ICE en plasma de ratas

5

Preparación de la muestra

1. Se toma una alícuota de 100 µl de plasma y en viales de centrifugación Eppendorf.

10 2. Al plasma se le añade un volumen igual de acetonitrilo para precipitar las proteínas plasmáticas.

3. Las muestras se agitan vorticialmente durante 2 minutos y se centrifugan a 14.000 rpm durante 3 minutos.

4. Se cargan 100 µl del sobrenadante en viales de muestreo para HPLC líquida de 12 mm.

15

5. Se añaden 20 µl más de estándar externo a la alícuota de 100 µl para controlar la variación de la respuesta instrumental.

6. Se inyectan 10 µl de muestra para su análisis mediante el espectrómetro de masas.

20

Parámetros instrumentales de HPLC

HPLC: Sistema Hewlett Packard HP1100 Binary Solvent Delivery.

25 Condiciones del gradiente de HPLC

A = H<sub>2</sub>O Acido fórmico al 2 %

B = Acetonitrilo Acido fórmico al 2 %

Fase móvil

Tiempo (min)	% de A	% de B
0	100	0
2	100	0
5	0	100
11	0	100
11,5	100	0
15	100	0

30

Columna Analítica de HPLC: Keystone Phenyl-1 Hypersil 2,0 x 100 mm, 5 µ de tamaño de poro 120 Å, P/N# 105-36-2

Volumen de inyección: 10 µl

Caudal: 0,20 ml/min

35 Parámetros instrumentales de la espectrometría de masas

Instrumento: Micromass Quattro Ultima, Espectrómetro de Masas en Tándem

Técnica de ionización: Pulverización ortogonal (IEN)

Polaridad: Positiva

Tiempo de residencia: 300 ms

Tiempo de pausa: 5 ms

Tiempo de exploración: 0,9 s

Modo de exploración: MRM (Monitorización de Reacción Múltiple)

Iones/Transiciones: Para el compuesto **I-A** m/z 509,1-243,1

Para el compuesto **II** m/z 481,1-215,1

40 Parámetros farmacocinéticos

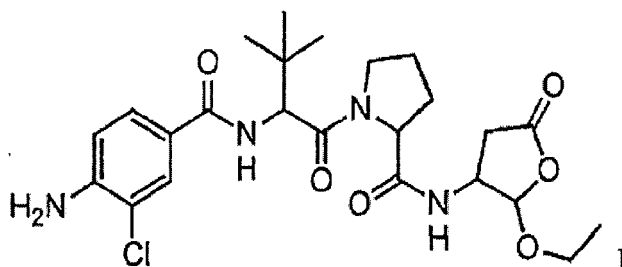
El análisis farmacocinético de estos datos de concentración plasmática se realizó usando procedimientos no compartimentales. El área bajo la curva (AUC<sub>(0-t)</sub>) se calculó desde el tiempo cero hasta el último punto de tiempo medido, usando la regla trapezoidal lineal. La tasa de eliminación (ke) se calculó por medio de una regresión lineal log de la fase terminal de las curvas de concentración de plasma-tiempo. El área bajo la cola de la curva se calculó como la proporción de la última concentración medida con respecto a ke. El área bajo la curva desde el tiempo cero hasta infinito (AUC<sub>(0-∞)</sub>) se obtuvo mediante la adición del área bajo la cola a (AUC<sub>(0-t)</sub>). La semivida de eliminación se

45

calculó como  $0,693/ke$ . Se registraron los valores observados para el valor máximo de concentración de plasma ( $C_{máx}$ ).

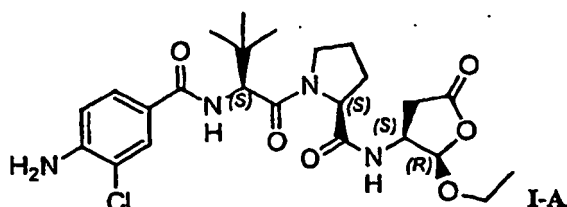
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula



10

3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 ó 2, y un transportador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

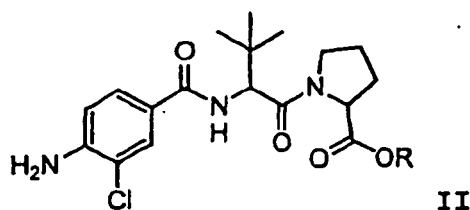
- 15 4. El uso del compuesto de la reivindicación 1 ó 2 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, en la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir una enfermedad seleccionada entre una enfermedad mediada por IL-1, una enfermedad mediada por apoptosis, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, un trastorno óseo destructivo, un trastorno proliferativo, una enfermedad infecciosa, una enfermedad degenerativa, una enfermedad necrosante, una enfermedad de exceso en la ingestión de alcohol en la  
20 dieta, una enfermedad mediada por virus, peritonitis inflamatoria, osteoartritis, pancreatitis, asma, síndrome de distrés respiratorio adulto, glomerulonefritis, artritis reumatoide, uveitis, lupus eritomatoso sistémico, esclerodema, tiroiditis crónica, enfermedad de Grave, gastritis autoinmune, diabetes mellitus (Tipo I) dependiente de insulina, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, hepatitis activa crónica, miastenia gravis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis atópica, enfermedad de injerto  
25 contra huésped, osteoporosis, leucemia y trastornos relacionados, síndrome mielodisplásico, trastornos óseos relacionados con mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, melanoma metastático, sarcoma de Kaposi, mieloma múltiple, sepsis, choque séptico, Shigelosis, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, isquemia cerebral, isquemia miocárdica, infarto de miocardio, fallo cardiaco congestivo, enfermedad de Huntington, aterosclerosis, atrofia muscular espinal, esclerosis múltiple, encefalitis relacionada con SIDA, encefalitis  
30 relacionada con VIH, envejecimiento, alopecia, lesión neurológica debida a ictus, colitis ulcerosa, lesión cerebral traumática, rechazo de transplante de órganos, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis G, fiebre amarilla, fiebre del dengue o encefalitis Japonesa, en un paciente.

5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la enfermedad es artritis reumatoide, enfermedad  
35 inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, peritonitis inflamatoria, esclerosis lateral amiotrófica, choque séptico, pancreatitis, lesión cerebral traumática, rechazo al transplante de órganos, osteoporosis, osteoartritis, asma, psoriasis, enfermedad de Alzheimer, infarto de miocardio, fallo cardiaco congestivo, enfermedad de Huntington, aterosclerosis, dermatitis atópica, leucemias y trastornos relacionados, síndrome mielodisplásico, uveitis o mieloma múltiple.  
40

6. El uso del compuesto de la reivindicación 1 ó 2 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 en la fabricación de un medicamento para la inhibición de una función mediada por ICE en un paciente.

- 45 7. El uso del compuesto de la reivindicación 1 ó 2 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 en la fabricación de un medicamento para disminuir la producción de IL-18 o IFN- $\gamma$  en un paciente.

8. Un compuesto representado por la fórmula II:



en la que R se selecciona entre hidrógeno o alquilo C<sub>1-12</sub>.

- 5 9. El compuesto de la reivindicación 8, en el que R se selecciona entre hidrógeno o *tert*-butilo.
10. El compuesto de la reivindicación 1 ó 2 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad seleccionada entre una enfermedad mediada por IL-1, una enfermedad mediada por apoptosis, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, un trastorno óseo destructivo, un trastorno proliferativo, una enfermedad infecciosa, una enfermedad degenerativa, una enfermedad necrosante, una enfermedad de exceso en la ingestión de alcohol en la dieta, una enfermedad mediada por virus, peritonitis inflamatoria, osteoartritis, pancreatitis, asma, síndrome de distrés respiratorio adulto, glomerulonefritis, artritis reumatoide, uveitis, lupus eritomatoso sistémico, esclerodema, tiroiditis crónica, enfermedad de Grave, gastritis autoinmune, diabetes mellitus (Tipo I) dependiente de insulina, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, hepatitis activa crónica, miastenia gravis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, soriasis, dermatitis atópica, enfermedad de injerto contra huésped, osteoporosis, leucemias y trastornos relacionados, síndrome mielodisplásico, trastorno óseo relacionado con mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, melanoma metastático, sarcoma de Kaposi, mieloma múltiple, sepsis, choque séptico, Shigelosis, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, isquemia cerebral, isquemia miocárdica, infarto de miocardio, fallo cardiaco congestivo, enfermedad de Huntington, aterosclerosis, atrofia muscular espinal, esclerosis múltiple, encefalitis relacionada con SIDA, encefalitis relacionada con VIH, envejecimiento, alopecia, lesión neurológica debido a un ictus, colitis ulcerosa, lesión cerebral traumática, rechazo de transplante de órganos, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis G, fiebre amarilla, fiebre del dengue o encefalitis Japonesa, en un paciente.
- 15
- 20
- 25 11. Compuesto o composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la enfermedad es artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, peritonitis inflamatoria, esclerosis lateral amiotrófica, choque séptico, pancreatitis, lesión cerebral traumática, rechazo al transplante de órganos, osteoporosis, osteoartritis, asma, psoriasis, enfermedad de Alzheimer, infarto de miocardio, fallo cardiaco congestivo, enfermedad de Huntington, aterosclerosis, dermatitis atópica, leucemias y trastornos relacionados, síndrome mielodisplásico, uveitis o mieloma múltiple.
- 30
- 35 12. El compuesto de la reivindicación 1 ó 2 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 para su uso en la inhibición de una función mediada por ICE en un paciente.
13. El compuesto de la reivindicación 1 ó 2 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 para su uso en el descenso de la producción de IL-18 o IFN- $\gamma$  en un paciente.