

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 456 673**

51 Int. Cl.:

C07D 233/54 (2006.01)

A61K 31/4164 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2007 E 07751414 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.04.2014 EP 2010501**

54 Título: **Compuestos basados en imidazol, composiciones que los comprenden y métodos para usarlos**

30 Prioridad:

24.02.2006 US 776473 P

20.06.2006 US 815221 P

25.01.2007 US 698253

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

23.04.2014

73 Titular/es:

**LEXICON PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
8800 TECHNOLOGY FOREST PLACE
THE WOODLANDS, TX 77381, US**

72 Inventor/es:

**AUGERI, DAVID J.;
BAGDANOFF, JEFFREY;
BOTEJU, LAKMAL W.;
CARSON, KENNETH G.;
JESSOP, THEODORE C. y
KIMBALL, DAVID S.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 456 673 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos basados en imidazol, composiciones que los comprenden y métodos para usarlos

1. Campo de la invención

Esta invención se refiere a compuestos basados en imidazol, y composiciones farmacéuticas que los comprenden.

5 2. Antecedentes

La esfingosina-1-fosfato (S1P) es una molécula bioactiva con efectos potentes en múltiples sistemas de órganos. Saba, J.D. and Hla, T. *Circ. Res.* 94:724-734 (2004). Aunque algunos creen que el compuesto es un mensajero secundario intracelular, su modo de acción es todavía tema de debate. *Ídem.* Realmente, incluso su metabolismo se entiende poco. Hla, T., *Science* 309:1682-3 (2005). Los investigadores actualmente creen que el S1P se forma por fosforilación de la esfingosina y es degradado por desfosforilación o eliminación. Se ha descrito que su escisión en fosfato de etanolamina y un aldehído de cadena larga es catalizada por la S1P liasa. *Ídem;* Pyne & Pyne, *Biochem. J.* 349:385-402 (2000).

La esfingosina-1-fosfato liasa es una enzima dependiente de vitamina B₆ localizada en la membrana del retículo endoplásmico. Van Veldhoven and Mannaerts, *J. Biol. Chem.* 266:12502-12507 (1991); Van Veldhoven and Mannaerts, *Adv. Lipid. Res.* 26:69 (1993). Las secuencias del polinucleótido y de aminoácidos de la S1P liasa humana y sus productos génicos se describen en la solicitud de patente PCT nº WO 99/16888.

Recientemente, Schwab y colaboradores han concluido que un componente del color caramelo de clase III, el 2-acetil-4-tetrahidroxibutilimidazol (THI), inhibe la actividad de la S1P liasa cuando se administra a ratones. Schwab, S. et al., *Science* 309:1735-1739 (2005). Aunque otros han postulado que el THI ejerce sus efectos por un mecanismo diferente (véase, p. ej., Pyne, S.G., *ACGC Chem. Res. Comm.* 11:108-112 (2000)), está claro que la administración del compuesto a ratas y ratones induce linfopenia y produce la acumulación de linfocitos T maduros en el timo. Véase, p. ej., Schwab, véase antes; Pyne, S.G., *ACGC Chem. Res. Comm.* 11:108-112 (2000); Gugsyan, R., et al., *Immunology* 93(3):398-404 (1998); Halweg, K. M. and Büchi, G., *J. Org. Chem.* 50:1134-1136 (1985); patente de EE.UU. nº 4.567.194 de Kroeplien y Rosdorfer. Pero todavía no se conocen publicaciones sobre que el THI tenga un efecto inmunológico en animales distintos de ratones y ratas. Aunque la patente de EE.UU. 4.567.194 afirma que el THI y algunos compuestos relacionados pueden ser útiles como agentes medicinales inmunosupresores, estudios del compuesto en seres humanos no encontraron efectos inmunológicos. Véase, Thuvander, A. and Oskarsson, A., *Fd. Chem. Toxic.* 32(1):7-13 (1994); Houben, G.F., et al., *Fd. Chem. Toxic.* 30(9):749-757 (1992).

3. Resumen de la invención

30 Esta invención se dirige a compuestos, a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos, y al uso de estos compuestos para la fabricación de un medicamento, de acuerdo con las reivindicaciones.

4. Breve descripción de las figuras

Algunos aspectos de esta invención se pueden entender con referencia a las siguientes figuras:

35 La figura 1 proporciona un diagrama de puntos de una citometría de flujo (FACS) representativa que muestra el efecto del control con vehículo (VC), un compuesto de la invención (compuesto 1) y THI en una composición de linfocitos T (CD4+ y CD8+) del timo y la media/Sd para todos los ratones (n = 3).

La figura 2 proporciona un diagrama de puntos de FACS representativo que muestra el efecto del control con vehículo (VC), un compuesto de la invención (compuesto 1) y THI en un subconjunto de células CD4+ (emigrantes tímicos recientes) en ratones.

40 La figura 3 proporciona un diagrama de puntos de FACS representativo que muestra el efecto del control con vehículo (VC), un compuesto de la invención (compuesto 1) y THI en un subconjunto de células CD8+ (emigrantes tímicos recientes) en ratones.

La figura 4 muestra los efectos del control con vehículo THI, compuesto 1 y 1-(4-metil-5-((1S,2R,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)tiazol-2-il)etanona (compuesto 2) en recuentos de sangre entera de ratones.

45 La figura 5 muestra el efecto de la dosificación oral única de un compuesto de la invención en la artritis inducida por colágeno en ratones.

La figura 6 muestra el efecto de la dosificación oral única de un compuesto de la invención en los números de leucocitos y linfocitos de macacos cangrejeros.

5. Descripción detallada

50 Esta invención es resultado, en parte, de los estudios de ratones con el gen de la S1P liasa alterado, y se refiere

principalmente a compuestos que se cree que son útiles en el tratamiento, prevención y/o gestión de enfermedades y trastornos autoinmunitarios e inflamatorios.

5.1. Definiciones

- 5 Salvo que se indique otra cosa, el término “alquenilo” significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada y/o cíclico que tiene de 2 a 20 (p. ej., de 2 a 10 ó de 2 a 6) átomos de carbono, y que incluye al menos un doble enlace carbono-carbono. Los restos alquenilo representativos incluyen vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 1-heptenilo, 2-heptenilo, 3-heptenilo, 1-octenilo, 2-octenilo, 3-octenilo, 1-nonenilo, 2-nonenilo, 3-nonenilo, 1-decenilo, 2-decenilo y 3-decenilo.
- 10 Salvo que se indique otra cosa, el término “alquilo” significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada y/o cíclico (“cicloalquilo”) que tiene de 1 a 20 (p. ej., de 1 a 10 ó de 1 a 4) átomos de carbono. Los restos alquenilo que tienen de 1 a 4 carbonos se denominan “alquilo inferior”. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero sin limitar, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetilpentilo, nonilo, decilo, undecilo y dodecilo. Los restos cicloalquilo pueden ser monocíclicos o multicíclicos, y los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y adamantilo. Ejemplos adicionales de restos alquilo tienen partes lineales, ramificadas y/o cíclicas (p. ej., 1-etil-4-metil-ciclohexilo). El término “alquilo” incluye hidrocarburos saturados así como restos alquenilo y alquinilo.
- 15 Salvo que se indique otra cosa, el término “alquilarilo” o “alquil-arilo” significa un resto alquilo unido a un resto arilo.
- 20 Salvo que se indique otra cosa, el término alquilheteroarilo” o “alquil-heteroarilo” significa un resto alquilo unido a un resto heteroarilo.
- Salvo que se indique otra cosa, el término “alquilheterociclo” o “alquil-heterociclo” significa un resto alquilo unido a un resto heterociclo.
- 25 Salvo que se indique otra cosa, el término “alquinilo” significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada o cíclico que tiene de 2 a 20 (p. ej., de 2 a 10 ó de 2 a 6) átomos de carbono, y que incluye al menos un triple enlace carbono-carbono. Los restos alquinilo representativos incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1-butinilo, 4-pentinilo, 1-hexinilo, 2-hexinilo, 5-hexinilo, 1-heptinilo, 2-heptinilo, 6-heptinilo, 1-octinilo, 2-octinilo, 7-octinilo, 1-noninilo, 2-noninilo, 8-noninilo, 1-decinilo, 2-decinilo y 9-decinilo.
- Salvo que se indique otra cosa, el término “alcoxi” significa un grupo -O-alquilo. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a -OCH₃, -OCH₂CH₃, -O(CH₂)₂CH₃, -O(CH₂)₃CH₃, -O(CH₂)₄CH₃ y -O(CH₂)₅CH₃.
- 30 Salvo que se indique otra cosa, el término “arilo” significa un anillo aromático o un sistema de anillos aromático o parcialmente aromático, compuesto de átomos de carbono e hidrógeno. Un resto arilo puede comprender múltiples anillos unidos o condensados entre sí. Los ejemplos de restos arilo incluyen, pero sin limitar, antraceno, azuleno, bifenilo, fluoreno, indano, indenilo, naftilo, fenantreno, fenilo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno y toliolo.
- Salvo que se indique otra cosa, el término “arilalquilo” o “aril-alquilo” significa un resto arilo unido a un resto alquilo.
- 35 Salvo que se indique otra cosa, la expresión “agente de reducción de linfocitos en la circulación” significa un compuesto que tiene un CLRF mayor de aproximadamente 20 por ciento.
- Salvo que se indique otra cosa, la expresión “factor de reducción de linfocitos en la circulación” o “CLRF” significa la disminución del número de linfocitos en la circulación en ratones, producida por la administración oral de una dosis única de un compuesto de 100 mg/kg, determinado por el método descrito en los ejemplos, más adelante.
- 40 Salvo que se indique otra cosa, el término “halógeno” y “halogeno” abarcan flúor, cloro, bromo y yodo.
- Salvo que se indique otra cosa, el término “heteroalquilo” se refiere a un resto alquilo (p. ej., lineal, ramificado o cíclico) en donde al menos uno de sus átomos de carbono se ha sustituido por un heteroátomo (p. ej., N, O o S).
- Salvo que se indique otra cosa, el término “heteroarilo” significa un resto arilo en donde al menos al menos uno de sus átomos de carbono se ha sustituido por un heteroátomo (p. ej., N, O o S). Los ejemplos incluyen, pero sin limitar, acridinilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzoisotiazolilo, benzoisoxazolilo, benzoquinazolinilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, furilo, imidazolilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, ftalazinilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridilo, pirimidinilo, pirimidilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, tetrazolilo, tiazolilo y triazinilo.
- Salvo que se indique otra cosa, el término “heteroarilalquilo” o “heteroaril-alquilo” significa un resto heteroarilo unido a un resto alquilo.
- 50 Salvo que se indique otra cosa, el término “heterociclo” se refiere a un anillo o sistema de anillos monocíclico o policíclico, aromático, parcialmente aromático o no aromático compuesto de carbono, hidrógeno y al menos un heteroátomo (p. ej., N, O o S). Un heterociclo puede comprender múltiples anillos (es decir, dos o más) condensados

o unidos entre sí. Los heterociclos incluyen heteroarilos. Los ejemplos incluyen, pero sin limitar, benzo[1,3]dioxolilo, 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxinilo, cinolinilo, furanilo, hidantoinilo, morfolinilo, oxetanilo, oxiranilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo y valerolactamilo.

- 5 Salvo que se indique otra cosa, el término "heterocicloalquilo" o "heterociclo-alquilo" se refiere a un resto heterociclo unido a un resto alquilo.

Salvo que se indique otra cosa, el término "heterocicloalquilo" se refiere a un heterociclo no aromático.

Salvo que se indique otra cosa, el término "heterocicloalquilalquilo" o "heterocicloalquil-alquilo" se refiere a un resto heterocicloalquilo unido a un resto alquilo.

- 10 Salvo que se indique otra cosa, los términos "gestionar", "gestiona" y "gestión", abarcan prevenir la recaída de la enfermedad o trastorno especificado en un paciente que ya ha sufrido la enfermedad o trastorno, y/o alargar el tiempo que el paciente que ha sufrido la enfermedad o trastorno permanece en remisión. Los términos abarcan modular el umbral, desarrollo y/o duración de la enfermedad o trastorno, o cambiar la forma en que un paciente responde a la enfermedad o trastorno.

- 15 Salvo que se indique otra cosa, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables incluyendo ácidos y bases inorgánicos y ácidos y bases orgánicos. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables incluyen, peso sin limitar, sales metálicas hechas de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc, o sales orgánicas hechas de N,N'-dibenciletilendiamina, clorprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaina.

- 20 Los ácidos no tóxicos adecuados incluyen, pero sin limitar, ácidos inorgánicos y orgánicos tales como ácido acético, algínico, antranílico, benzenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico, glutámico, glicólico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múcico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, tartárico, y ácido p-toluenosulfónico. Los ácidos no tóxicos específicos incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y metanosulfónico. Los ejemplos de sales específicas incluyen, por lo tanto, sales de hidrocloreuro y mesilato. Otras son bien conocidas en la materia. Véase, p. ej., *Remington's Pharmaceutical Sciences* (18th ed., Mack Publishing, Easton Pa.: 1990) y *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (19th ed., Mack Publishing, Easton Pa.: 1995).

- 25 Salvo que se indique otra cosa, los términos "prevenir", "previene" y "prevención" contemplan una acción que ocurre antes de que un paciente empiece a sufrir la enfermedad o trastorno especificado, que inhibe o reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno. En otras palabras, los términos abarcan profilaxis.

- 30 Salvo que se indique otra cosa, una "cantidad profilácticamente eficaz" de un compuesto, es una cantidad suficiente para prevenir una enfermedad o afección, o uno o más síntomas asociados con la enfermedad o afección, o prevenir su recaída. Una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otros agentes, que proporciona un beneficio profiláctico en la prevención de la enfermedad. La expresión "cantidad profilácticamente eficaz" puede abarcar una cantidad que mejora la profilaxis general o potencia la eficacia profiláctica de otro agente profiláctico.

Salvo que se indique otra cosa, la expresión "agente potenciador del nivel de S1P" significa un compuesto que tiene un SLEF de al menos aproximadamente 10 veces.

- 35 Salvo que se indique otra cosa, la expresión "factor de potenciación del nivel de S1P" o "SLEF" significa el aumento de S1P en los bazo de ratones producidos por la administración oral de una sola dosis de un compuesto de 100 mg/kg, determinado por el método descrito en los ejemplos, más adelante.

Salvo que se indique otra cosa, la expresión "mezcla de estereoisómeros" abarca mezclas racémicas así como mezclas enriquecidas en un estereoisómero (p. ej., R/S = 30/70, 35/65, 40/60, 45/55, 55/45, 60/40, 65/35 y 70/30).

- 40 Salvo que se indique otra cosa, la expresión "estereoisoméricamente puro" significa una composición que comprende un estereoisómero de un compuesto y carece sustancialmente de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, una composición estereoisoméricamente pura de un compuesto que tiene un centro estereogénico carecerá sustancialmente del estereoisómero opuesto del compuesto. Una composición estereoisoméricamente pura de un compuesto que tiene dos centros estereogénicos, carecerá sustancialmente de otros diastereoisómeros del compuesto. Un compuesto estereoisoméricamente puro comprende más de aproximadamente 80% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 20% en peso de otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente 90% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 10% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente 95% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 5% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente 97% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 3% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, o más de aproximadamente 99% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 1% en peso de

los otros estereoisómeros del compuesto.

Salvo que se indique otra cosa, el término “sustituido” cuando se usa para describir una estructura o resto químico, se refiere a un derivado de esa estructura o resto en donde uno o más de sus átomos de hidrógeno se sustituyen por un resto químico o grupo funcional, tal como, pero sin limitar, alcohol, aldehído, alcoxi, alcanoiloxi, alcoxycarbonilo, alquenilo, alquilo (p. ej., metilo, etilo, propilo, t-butilo), alquinilo, alquilcarboniloxi (-OC(O)alquilo), amida (-C(O)NH-alquilo- o -alquilNHC(O)alquilo), amidinilo (-C(NH)NH-alquilo o -C(NR)NH₂), amina (primaria, secundaria y terciaria tal como alquilamino, arilamino, arilalquilamino), aroilo, arilo, ariloxi, azo, carbamoilo (-NHC(O)O-alquilo- o -OC(O)NH-alquilo), carbamilo (p. ej., CONH₂, así como CONH-alquilo, CONH-arilo, y CONH-arilalquilo), carbonilo, carboxilo, ácido carboxílico, anhídrido de ácido carboxílico, cloruro de ácido carboxílico, ciano, éster, epóxido, éter (p. ej., metoxi, etoxi), guanidino, halógeno, halogenoalquilo (p. ej., -CCl₃, -CF₃, -C(CF₃)₃), heteroalquilo, hemiacetal, imina (primaria y secundaria), isocianato, isotiocianato, cetona, nitrilo, nitro, oxo, fosfodiéster, sulfuro, sulfonamido (p. ej., SO₂NH₂), sulfona, sulfonilo (incluyendo alquilsulfonilo, arilsulfonilo y arilalquilsulfonilo), sulfóxido, tiol (p. ej., sulfhidrido, tioéter) y urea (-NHCONH-alquilo-).

Salvo que se indique otra cosa, una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto, es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o gestión de una enfermedad o afección, o retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o afección. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o gestión de la enfermedad. La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” puede abarcar una cantidad que mejora la terapia general, reduce o evita síntomas o causas de una enfermedad o afección, o potencia la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

Salvo que se indique otra cosa, los términos “tratar”, “trato” y “tratamiento” contemplan una acción que se produce mientras un paciente padece la enfermedad o trastorno especificado, que reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno, o retrasa o ralentiza el avance de la enfermedad o trastorno.

Salvo que se indique otra cosa, el término “incluyen” tiene el mismo significado que “incluyen, pero sin limitar,” y el término “incluye” tiene el mismo significado que “incluye, pero sin limitar.”. Igualmente, la expresión “tal como” tiene el mismo significado que la expresión “tal como, pero sin limitar.”.

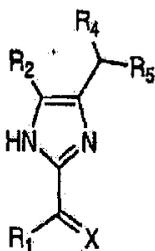
Salvo que se indique otra cosa, uno o más adjetivos que siguen inmediatamente a una serie de nombres, se debe considerar que se aplican a cada uno de los nombres. Por ejemplo, la frase “alquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido” tiene el mismo significado que “alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido”.

Debe indicarse que un resto químico que forma parte de un compuesto mayor, se puede describir en la presente memoria usando un nombre acordado comúnmente para el mismo cuando existe como una molécula sola o un nombre acordado comúnmente para su radical. Por ejemplo, los términos “piridina” y “piridilo” tienen el mismo significado cuando se usan para describir un resto unido a otros restos químicos. Por lo tanto, las dos frases “XOH, en donde X es piridilo” y “XOH, en donde X es piridina” tienen el mismo significado, y abarcan los compuestos piridin-2-ol, piridin-3-ol y piridin-4-ol.

Hay que indicar que si la estereoquímica de una estructura o una parte de una estructura no está indicada, por ejemplo, con líneas en negrita o de trazos, debe interpretarse que la estructura o la parte de la estructura abarca todos los estereoisómeros de la misma. Además, cualquier átomo mostrado en un dibujo que valencias no satisfechas, se supone que está unido a suficientes átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias. Además, los enlaces químicos representados con una línea negra paralela a una línea de trazos abarcan tanto enlaces sencillos como dobles (p. ej., aromático), si las valencias lo permiten.

5.2. Compuestos

Esta invención no abarca compuestos de fórmula I:

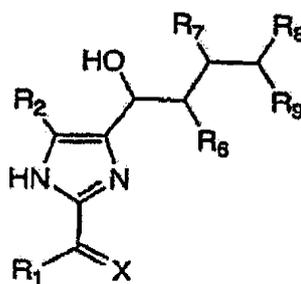


I

y sus sales y solvatos (p. ej., hidratos) farmacéuticamente aceptables, en donde X es O o NR₃; R₁ es OR_{1A}, NHOH,

- 5 hidrógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₂ es OR_{2A}, C(O)OR_{2A}, hidrógeno, halógeno, nitrilo o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₃ es OR_{3A}, N(R_{3A})₂, NHC(O)R_{3A}, NHSO₂R_{3A}, o hidrógeno; R₄ es OR_{4A}, OC(O)R_{4A}, hidrógeno, halógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₅ es N(R_{5A})₂, hidrógeno, hidroxilo, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; y cada uno de R_{1A}, R_{2A}, R_{3A}, R_{4A}, y R_{5A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido.
- 10 Los compuestos particulares de fórmula I son tales que si X es O; R₁ es alquilo de 1 a 4 carbonos, fenilo, bencilo o feniletilo; R₂ es hidrógeno; y uno de R₄ y R₅ es hidroxilo; el otro de R₄ y R₅ no es alquilo de 1 a 6 carbonos, hidroxialquilo de 1 a 6 carbonos, polihidroxialquilo de 1 a 6 carbonos que tiene hasta un hidroxilo por carbono, poliacetalquilo de 1 a 6 carbonos que tiene hasta un acetilo por carbono, fenilo, bencilo o feniletilo.
- 15 En realizaciones particulares, el compuesto no es el 2-acetil-4-tetrahidroxibutilimidazol, 1-(4-(1,1,2,2,4-pentahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etanona, tetraacetato de 1-(2-acetil-1H-imidazol-4-il)butano-1,1,2,2-tetrailo, o pentaacetato de 1-(2-acetil-1H-imidazol-4-il)butano-1,1,2,2,4-pentaílo.

La invención abarca compuestos de fórmula II:



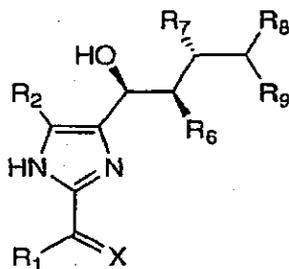
II

- 20 y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables, en donde: X es O o NR₃; R₁ es OR_{1A}, NHOH, hidrógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₂ es OR_{2A}, C(O)OR_{2A}, hidrógeno, halógeno, nitrilo, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₃ es OR_{3A}, N(R_{3A})₂, NHC(O)R_{3A}, NHSO₂R_{3A} o hidrógeno; R₆ es OR_{6A}, OC(O)R_{6A}, N(R_{6B})₂, NHC(O)R_{6B}, hidrógeno o halógeno; R₇ es OR_{7A}, OC(O)R_{7A}, N(R_{7B})₂, NHC(O)R_{7B}, hidrógeno o halógeno; R₈ es OR_{8A}, OC(O)R_{8A}, N(R_{8B})₂, NHC(O)R_{8B}, hidrógeno o halógeno; R₉ es CH₂OR_{9A}, CH₂OC(O)R_{9A}, N(R_{9B})₂, NHC(O)R_{9B}, hidrógeno o halógeno; cada uno de R_{1A}, R_{2A}, R_{3A}, R_{6A}, R_{7A}, R_{8A} y R_{9A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; y cada uno de R_{6B}, R_{7B}, R_{8B} y R_{9B} es independientemente hidrógeno o alquilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos hidroxilo o halógeno;
- 25

Los compuestos particulares de fórmula II son tales que:

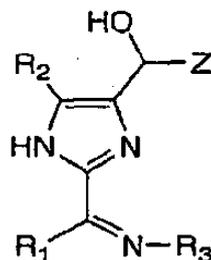
- 30 1) Si X es O, R₁ es alquilo de 1 a 4 carbonos, fenilo, bencilo o feniletilo, y R₂ es hidrógeno, al menos dos de R₆, R₇, R₈ y R₉ no son hidroxilo o acetato; 2) si X es O, R₁ es metilo, R₂ es hidrógeno, R₆ y R₇ son ambos hidroxilo, y uno de R₈ y R₉ es hidrógeno, el otro no es NHC(O)R_{9B}; 3) si X es O, R₁ es OR_{1A}, R_{1A} es hidrógeno o alquilo inferior, y R₂ es hidrógeno, al menos uno, pero no todos de R₆, R₇, R₈ y R₉ es hidroxilo o acetato.

Los compuestos particulares de la invención tienen la fórmula II(a):



II(a)

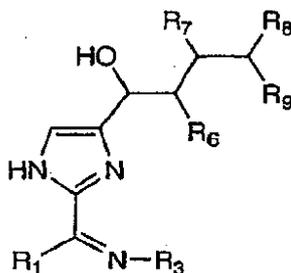
Otros tienen la fórmula III:



III

5 en donde: Z es alquilo opcionalmente sustituido; R₁ es OR_{1A}, NHOH, hidrógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₂ es OR_{2A}, C(O)OR_{2A}, hidrógeno, halógeno, nitrilo, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₃ es OR_{3A}, N(R_{3A})₂, NHC(O)R_{3A}, NHSO₂R_{3A}, o hidrógeno; y cada uno de R_{1A}, R_{2A} y R_{3A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido.

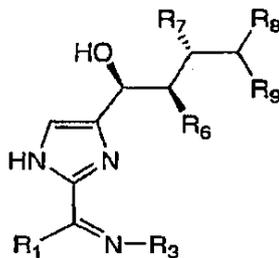
Otra realización de la invención abarca los compuestos de fórmula IV:



IV

10 y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables, en donde: R₁ es OR_{1A}, NHOH, hidrógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; R₃ es OR_{3A}, N(R_{3A})₂, NHC(O)R_{3A}, NHSO₂R_{3A}, o hidrógeno; R₆ es OR_{6A}, OC(O)R_{6A}, N(R_{6B})₂, NHC(O)R_{6B}, hidrógeno, o halógeno; R₇ es OR_{7A}, OC(O)R_{7A}, N(R_{7B})₂, NHC(O)R_{7B}, hidrógeno, o halógeno; R₈ es OR_{8A}, OC(O)R_{8A}, N(R_{8B})₂, NHC(O)R_{8B}, hidrógeno, o halógeno; R₉ es CH₂OR_{9A}, CH₂OC(O)R_{9A}, N(R_{9B})₂, NHC(O)R_{9B}, hidrógeno, o halógeno; y cada uno de R_{1A}, R_{3A}, R_{6A}, R_{7A}, R_{8A} y R_{9A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido.

Los compuestos particulares son de fórmula IV(a):



IV(a)

20 Con respecto a cada una de las fórmulas mostradas antes que contienen los restos descritos a continuación, algunas realizaciones de la invención son tales que:

En algunas, X es O. En otras, X es NR₃.

En algunas, R₁ es hidrógeno. En otras, R₁ es alquilo inferior opcionalmente sustituido. En otras, R₁ es NHOH. En otras, R₁ es OR_{1A} y R_{1A} es, por ejemplo, hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido.

En algunas, R_2 es hidrógeno. En otras, R_2 no es hidrógeno. En otras, R_2 es nitrilo. En otras, R_2 es alquilo inferior opcionalmente sustituido. En otras, R_2 es OR_{2A} . En otras, R_2 es $C(O)OR_{2A}$. En algunas, R_{2A} es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido.

5 En algunas, R_3 es OR_{3A} . En otras, R_3 es $N(R_{3A})_2$ o $NHC(O)R_{3A}$. En otras, R_3 es $NHSO_2R_{3A}$. En algunas, R_{3A} es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido. En otras, R_{3A} es arilo o heterociclo opcionalmente sustituido.

En algunas, R_4 es OR_{4A} . En otras, R_4 es halógeno.

En algunas, R_5 es $N(R_{5A})_2$. En otras, R_5 es hidrógeno. En otras, R_5 es hidroxilo. En otras, R_5 es heteroalquilo (p. ej., alcoxi). En otras, R_5 es alquilo opcionalmente sustituido. En otras, R_5 es arilo opcionalmente sustituido.

10 En algunas, uno o más de R_6 , R_7 , R_8 y R_9 es hidroxilo o halógeno. En algunas, todos de, R_7 , R_8 y R_9 son hidroxilo o acetato.

En algunas, Z es alquilo opcionalmente sustituido con uno o más restos hidroxilo, acetato o halógeno.

15 Los compuestos de la invención pueden contener uno o más centros estereogénicos, y pueden existir como mezclas racémicas de enantiómeros o mezclas de diastereoisómeros. Esta invención abarca formas estereoisoméricamente puras de dichos compuestos, así como mezclas de estas formas. Los estereoisómeros se pueden sintetizar de forma asimétrica o resolver usando técnicas convencionales tales como columnas quirales o agentes de resolución quirales. Véase, Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, S.H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E.L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw Hill, NY, 1962); y Wilen, S.H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions*, p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, Ind., 1972).

20 Esta invención abarca además mezclas de estereoisómeros de compuestos descritos en la presente memoria. También abarca isómeros configuracionales de compuestos descritos en la presente memoria, mezclados o en forma pura o sustancialmente pura, tal como isómeros cis (Z) y trans (E) de alquenos e isómeros sin y anti de oxima.

25 Los compuestos preferidos de la invención son agentes de reducción de linfocitos de la circulación. Algunos compuestos inhiben la cantidad de linfocitos en la circulación, determinada usando el método descrito en los ejemplos, en más de aproximadamente 20, 50, 75, 100, 150 ó 200 por ciento. Con respecto a esto, se ha encontrado que aunque el THI puede reducir los linfocitos en la circulación en ratones, muchos análogos y derivados de THI, tales como la 1-(4-metil-5-((1S,2R,3R)-1,2,3,4-tetrahidrobutil)tiazol-2-il)etanon, tienen poco efecto o no tienen efecto en los linfocitos de la circulación, a pesar de publicaciones de lo contrario. Véase el documento WO 97/46543.

30 Sin estar limitados por la teoría, se cree que los compuestos de la invención afectan a la ruta metabólica del S1P, y pueden inhibir la S1P liasa directa o indirectamente in vivo. Los compuestos particulares son agentes potenciadores del nivel de S1P. Algunos compuestos aumentan la cantidad de S1P, determinada usando el método descrito a continuación en los ejemplos, en más de aproximadamente 10, 15, 20, 25 o 30 veces.

35 Los compuestos de la invención se pueden preparar por métodos conocidos en la técnica (p. ej., variando y añadiendo a los procedimientos descritos en Pyne, S.G., *ACGC Chem. Res. Comm.* 11:108-112 (2000); Halweg, K.M. and Büchi, G., *J. Org. Chem.* 50:1134-1136 (1985)). Los compuestos también se pueden hacer por métodos descritos más adelante y variantes de los mismos, que serán evidentes para los expertos en la técnica.

5.3. Métodos de uso

Los compuestos reivindicados se pueden usar en lo siguiente:

40 - un método de modulación (p. ej., aumento) de la cantidad de S1P en un paciente (p. ej., un ratón, rata, perro, gato o ser humano) que lo necesite, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de la invención (es decir, un compuesto descrito en la presente memoria),

- un método de reducción del número de linfocitos T en la sangre de un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de la invención,

45 - un método de tratamiento, gestión o prevención de una enfermedad afectada por (o que tiene síntomas afectados por) los niveles de S1P, que comprende administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención,

- un método de supresión de la respuesta inmunitaria en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de la invención,

50 - un método para el tratamiento, gestión o prevención de una enfermedad o trastorno autoinmunitario o inflamatorio, que comprende administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención. Los ejemplos de enfermedades y trastornos incluyen espondilitis anquilosante, asma (p. ej., asma bronquial), dermatitis atómica, enfermedad de Behcet, enfermedad de injerto contra huésped, síndrome de

Kawasaki, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, miastenia gravis, polinosis, psoriasis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, esclerodermia, rechazo de trasplante (p. ej., de órgano, célula o de médula ósea), diabetes tipo 1, y uveítis.

5 Enfermedades y trastornos adicionales incluyen enfermedad de Addison, síndrome antifosfolipídico, gastritis atrófica autoinmune, acloridria autoinmune, enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, síndrome de Cushing, dermatomiositis, síndrome de Goodpasteur, enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, atrofia suprarrenal idiopática, trombocitopenia idiopática, síndrome de Lambert-Eaton, penfigoide, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, poliarteritis nodosa, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, síndrome de Raynaud, síndrome de Reiter, policondritis recidivante, síndrome de Schmidt, síndrome de Sjogren, oftalmía simpática, arteritis de Takayasu, arteritis temporal, tirototoxicosis, colitis ulcerosa y granulomatosis de Wegener.

10 La cantidad, vía de administración y programa de dosificación de un compuesto dependerán de factores tales como la indicación específica que se va a tratar, prevenir o gestionar, y la edad, sexo y estado del paciente. Los papeles que tienen dichos factores son bien conocidos en la técnica, y se pueden acomodar por experimentación rutinaria. En una realización particular, se administra un compuesto de la invención a un paciente humano en una cantidad de 15 0,5, 1, 2,5 ó 5 mg/kg.

5.4. Formulaciones farmacéuticas

Esta invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos de la invención. Algunas composiciones farmacéuticas son formas farmacéuticas de una dosis para la administración oral, mucosa (p. ej., nasal, sublingual, vaginal, bucal o rectal), parenteral (p. ej., subcutánea, intravenosa, inyección de bolo, intramuscular o intraarterial), o transdérmica a un paciente. Los ejemplos de formas farmacéuticas incluyen, pero sin 20 limitar: comprimidos; comprimidos oblongos; cápsulas, tales como cápsulas de gelatina blanda elástica; sellos; pastillas para chupar; pastillas; dispersiones; supositorios; pomadas; cataplasmas (emplastos); pastas; polvos; vendajes; cremas; escayolas; soluciones; parches; aerosoles (p. ej., pulverizadores o inhaladores nasales); geles; formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración oral o mucosa a un paciente, incluyendo 25 suspensiones (suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua, o emulsiones de agua en aceite), soluciones y elixires; formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente; y sólidos estériles (p. ej. sólidos cristalinos o amorfos) que se pueden reconstituir para proporcionar formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente.

30 La formulación debe adecuarse al modo de administración. Por ejemplo, la administración oral requiere recubrimientos entéricos para proteger los compuestos de esta invención de la degradación dentro del tracto gastrointestinal. Igualmente, una formulación puede contener ingredientes que facilitan el suministro del o de los principios activos al sitio de acción. Por ejemplo, los compuestos se pueden administrar en formulaciones liposomales, con el fin de protegerlas de las enzimas degradadoras, facilitar el transporte en el sistema circulatorio, y realizar el suministro a través de membranas celulares a sitios intracelulares.

35 Igualmente, los compuestos poco solubles se pueden incorporar en formas farmacéuticas líquidas (y formas farmacéuticas adecuadas para reconstituir) con ayuda de agentes solubilizantes, emulsionantes y tensioactivos tales como, pero sin limitar ciclodextrinas (p. ej., α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, Captisol®, y Encapsin™ (véase, p. ej., Davis and Brewster, 2004, *Nat. Rev. Drug Disc.* 3:1023-1034), Labrasol®, Labrafil®, Labrafac®, cremafor, y disolventes no acuosos, tales como, pero sin limitar, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, dimetilsulfóxido 40 (DMSO), aceites biocompatibles (p. ej., aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles, ésteres de ácidos grasos y sorbitán, y mezclas de los mismos (p. ej., DMSO: aceite de maíz).

45 Los compuestos poco solubles también se pueden incorporar en suspensiones usando otras técnicas conocidas en la materia. Por ejemplo, se pueden suspender nanopartículas de un compuesto en un líquido para proporcionar una nanosuspensión (véase, p. ej., Rabinow, 2004, *Nature Rev. Drug Disc.* 3:785-796). Las formas de nanopartículas de compuestos descritos en la presente memoria se pueden preparar por los métodos descritos en las publicaciones de patentes de EE.UU. n° 2004-0164194, 2004-0195413, 2004-0251332, 2005-0042177 A1, 2005-0031691 A1, y patentes de EE.UU. n° 5.145.684, 5.510.118, 5.518.187, 5.534.270, 5.543.133, 5.662.883, 5.665.331, 5.718.388, 50 5.718.919, 5.834.025, 5.862.999, 6.431.478, 6.742.734, 6.745.962, la totalidad de las cuales se incorpora en la presente memoria por referencia. En una realización, la forma de nanopartículas comprende partículas que tienen un tamaño medio de partículas menor de aproximadamente 2000 nm, menor de aproximadamente 1000 nm, o menor de aproximadamente 500 nm.

55 La composición, forma y tipo de una forma farmacéutica variará dependiendo de su uso. Por ejemplo, una forma farmacéutica usada en el tratamiento agudo de una enfermedad puede contener cantidades mayores de uno o más de los principios activos que comprende, que una forma farmacéutica usada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. Igualmente, una forma farmacéutica parenteral puede contener cantidades menores de uno o más de los principios activos que comprende, que una forma farmacéutica oral usada para el tratamiento de la misma enfermedad. Estas y otras maneras en las que las formas farmacéuticas específicas abarcadas por esta invención

variarán de una a otra, serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia. Véase, p. ej., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton Pa. (1990).

5.4.1. Formas farmacéuticas orales

5 Las composiciones farmacéuticas de la invención adecuadas para la administración oral se pueden presentar en formas farmacéuticas discretas, tales como, pero sin limitar, comprimidos (p. ej., comprimidos masticables), comprimidos oblongos, cápsulas y líquidos (p. ej., jarabes aromatizados). Dichas formas farmacéuticas contienen cantidades predeterminadas de principios activos, y se pueden preparar por métodos de farmacia bien conocidos por los expertos en la técnica. Véase, p. ej., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton Pa. (1990).

10 Las formas farmacéuticas orales típicas se preparan por combinación del o de los principios activos en mezcla íntima con al menos un excipiente de acuerdo con las técnicas de composición farmacéuticas convencionales. Los excipientes pueden tener una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración.

15 Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan las formas farmacéuticas unitarias orales más ventajosas. Si se desea, los comprimidos se pueden recubrir por técnicas acuosas o no acuosas convencionales. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar por métodos convencionales de farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas se preparan por mezcla uniforme e íntima de los principios activos con los vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y después formando el producto en la presentación deseada, si es necesario. Se pueden incorporar disgregantes en formas farmacéuticas sólidas para facilitar la disolución rápida. También se pueden incorporar lubricantes para facilitar la fabricación de las formas farmacéuticas (p. ej., comprimidos).

5.4.2. Formas farmacéuticas parenterales

25 Las formas farmacéuticas parenterales se pueden administrar a pacientes por diferentes rutas incluyendo, pero sin limitar, subcutánea, intravenosa (incluyendo inyección de bolo), intramuscular, e intraarterial. Debido a que su administración típicamente sobrepasa las defensas naturales del paciente contra contaminantes, las formas farmacéuticas parenterales son específicamente estériles o capaces de ser esterilizadas antes de la administración a un paciente. Los ejemplos de formas farmacéuticas parenterales incluyen, pero sin limitar, disoluciones listas para inyección, productos secos listos para disolver o suspender en un vehículo farmacéuticamente aceptable para inyección, suspensiones listas para inyección y emulsiones.

30 Los vehículos adecuados que se pueden usar para proporcionar formas farmacéuticas parenterales de la invención son bien conocidas para el experto en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero sin limitar: agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero sin limitar, cloruro sódico para inyección, solución de Ringer para inyección, dextrosa para inyección, dextrosa y cloruro sódico para inyección, y solución de Ringer lactato para inyección; vehículos miscibles con el agua tales como, pero sin limitar, alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como, pero sin limitar, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

5.4.3. Formas farmacéuticas transdérmicas, tópicas y mucosales

40 Las formas farmacéuticas transdérmicas, tópicas y mucosales incluyen, pero sin limitar, disoluciones oftálmicas, pulverizadores, aerosoles, cremas, lociones, pomadas, geles, soluciones, emulsiones, suspensiones u otras formas conocidas para el experto en la técnica. Véase, p. ej., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16th and 18th ed., Mack Publishing, Easton Pa. (1980 y 1990); e *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985). Las formas farmacéuticas transdérmicas incluyen parches de "tipo depósito" o de "tipo matriz", parches, que se pueden aplicar a la piel y llevar durante un periodo específico de tiempo para permitir la penetración de una cantidad deseada de principios activos.

45 Los excipientes adecuados (p. ej., vehículos y diluyentes) y otros materiales que se pueden usar para proporcionar formas farmacéuticas transdérmicas, tópicas y mucosales son bien conocidas por los expertos en la técnica farmacéutica, y dependen del tejido particular al que se va a aplicar una composición farmacéutica o forma farmacéutica dada.

50 Dependiendo del tejido específico que se va a tratar, se pueden usar componentes adicionales antes de, en conjunto con, o posteriormente al tratamiento con principios activos de la invención. Por ejemplo, se pueden usar potenciadores de la penetración para ayudar al suministro de los principios activos al tejido.

55 El pH de una composición farmacéutica o forma farmacéutica, o del tejido al que se aplica la composición farmacéutica o forma farmacéutica, también se puede ajustar para mejorar el suministro de uno o más principios activos. Igualmente, la polaridad de un vehículo disolvente, su fuerza iónica, o tonicidad se pueden ajustar para mejorar el suministro. Los compuestos tales como estearatos también se pueden añadir a composiciones farmacéuticas o formas farmacéuticas para alterar ventajosamente la hidrofiliidad o lipofiliidad de uno o más

principios activos, para así mejorar el suministro. En relación con esto, los estearatos pueden servir como un vehículo de lípidos para la formulación, como un agente emulsionante o tensioactivo, y como un agente de potenciación del suministro o de potenciación de la penetración. Se pueden usar diferentes sales, hidratos o solvatos de los principios activos para ajustar las propiedades de la composición resultante.

5 **6. Ejemplos**

Se pueden entender aspectos de esta invención a partir de los siguientes ejemplos, que no limitan su alcance.

6.1. Ratones con gen de S1P liasa alterado

10 La captura de genes es un método de mutagénesis por inserción aleatoria que usa un fragmento de ADN que codifica un gen indicador o marcador seleccionable como mutágeno. Los vectores de captura de genes se han diseñado para integrar intrones o exones de una forma que permite que la maquinaria de empalme celular empalme exones codificados por vectores a ARNm celulares. Los vectores de captura de genes típicamente contienen secuencias de marcador seleccionable que son precedidas por secuencias de aceptor de empalme fuerte y no están precedidas por un promotor. Por lo tanto, cuando dichos vectores se integran en un gen, la maquinaria de empalme celular empalma exones del gen capturado en el extremo 5' de la secuencia de marcador seleccionable.
15 Típicamente, dichos genes de marcador seleccionable solo pueden ser expresados si el vector que codifica el gen se ha integrado en un intrón. Los sucesos de captura de genes resultantes posteriormente se identifican por selección de células que pueden sobrevivir al cultivo selectivo.

20 Los embriocitoblastos (derivados de la cepa murina A129) se mutaron por un procedimiento que implicaba la inserción de al menos una parte de una secuencia de vector diseñado por ingeniería genética en un gen de SP1 liasa. Los embriocitoblastos mutados después se microinyectaron en blastocitos, que posteriormente se introdujeron en hospedantes hembra seudopreñadas y se llevaron a término usando métodos establecidos. En este caso, el virus se insertó entre los exones 1 y 2, y alteró el gen de la SP1 liasa. Los animales quiméricos resultantes posteriormente se reprodujeron para producir descendencia capaz de transmisión en la línea germinal de un alelo que contenía la mutación diseñada por ingeniería genética en el gen de la SP1 liasa.

25 Las técnicas útiles para alterar un gen en una célula, en especial en una célula ES, que ya puede tener un gen alterado, se describen en las patentes de EE.UU. n° 6.136.566; 6.139.833 y 6.207.371 y solicitud de patente de EE.UU. n° 08/728.963, cada uno de los cuales se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad.

6.2. Efectos hematológicos de la alteración del gen de la S1P liasa

30 Se recogió sangre entera por extracción de sangre retroorbital y se puso en un tubo capilar de recolección de sangre que contenía EDTA. La sangre se analizó usando el analizador Cell-Dyn 3500R (Abbott Diagnostics). El analizador usa tecnologías dobles para proporcionar la base para una identificación diferencial de leucocitos (WBC) de 5 partes. La separación por dispersión polarizada con múltiples ángulos (M.A.P.S.S.) proporciona el número principal de leucocitos e información diferencial, mientras que la impedancia proporciona información adicional de la presencia de linfocitos frágiles y eritrocitos con resistencia hipotónica.

35 Se aspiraron aproximadamente 135 microlitros de sangre entera en el analizador usando una bomba peristáltica. Se usaron 4 técnicas de medición independientes mediante el sistema Cell-Dyn 3500R (Abbott, IL), para obtener los parámetros hematológicos. El recuento óptico de WBC (WOC) y los datos diferenciales de WBC se midieron en el canal de flujo óptico, dando como resultado la identificación de las subpoblaciones de WBC (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos) para el diferencial de WBC de 5 partes. El recuento por impedancia de WBC (WIC), se midió en un canal de impedancia eléctrica. Los datos de RBC y plaquetas se midieron en un segundo canal de impedancia eléctrica. La hemoglobina se midió en el canal espectrofotométrico. La muestra se aspiró, se diluyó, se mezcló y las mediciones para cada parámetro se obtuvieron durante cada ciclo del instrumento. Los parámetros de análisis hematológico finales obtenidos eran número de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, plaquetas, anchura de distribución de eritrocitos,
45 volumen corpuscular medio y volumen plaquetario medio.

50 Las muestras de sangre se obtuvieron de un total de 16 ratones. El análisis y la comparación de las muestras de sangre se obtuvieron de 7 ratones genéticamente intactos, 6 ratones heterocigotos y 3 ratones homocigotos. No había diferencias significativas asociadas a un genotipo entre ratones de los diferentes grupos, en relación con el número de eritrocitos (RBC), niveles de hemoglobina, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de hemoglobina corpuscular media, número de plaquetas o volumen medio de plaquetas. Había diferencias en el hematocrito y la anchura de distribución de eritrocitos. El hematocrito medio en ratones homocigotos (-/-) era $37 \pm 2,56$ por ciento, en ratones heterocigotos (+/-), $40,9 \pm 4\%$ y en ratones genéticamente intactos (+/+) era $44,7 \pm 2,7\%$. La anchura de distribución de eritrocitos en ratones homocigotos (-/-) era $25,2 \pm 4,2\%$, en ratones heterocigotos (+/-), $17,6 \pm 1,9\%$ y en ratones genéticamente intactos (+/+) era $17,2 \pm 2\%$.

55 Igualmente, los ratones deficientes en SP1 liasa no tenían diferencias significativas en el número total de leucocitos, comparados con los ratones heterocigotos o genéticamente intactos. Los ratones homocigotos (-/-) tenían número total de leucocitos de 7200 ± 700 células/ μ l. Los ratones heterocigotos (+/-) tenían número total de leucocitos de

6200 ± 1800 células/μl y los ratones genéticamente intactos (+/+) tenían número total de leucocitos de 7200 ± 2600 células/μl.

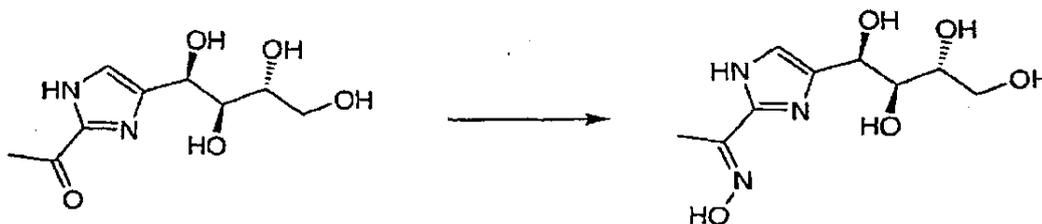
5 En los ratones que eran homocigotos para la alteración de la SP1 liasa, el número de linfocitos disminuyó, mientras que el número de neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos aumentó. El número de linfocitos en la sangre de ratones homocigotos (-/-) para la alteración en la SP1 liasa se redujo mucho. El número medio de linfocitos en ratones homocigotos (-/-) era 847 ± 139 células/μl, en ratones heterocigotos (+/-) el número medio de linfocitos era 4582 ± 2364 células/μl, en contraposición al número medio de linfocitos en ratones genéticamente intactos (+/+) que era 6126 ± 2151 células/μl.

10 En cambio, el número medio de neutrófilos en ratones homocigotos (-/-) era 5020 ± 612 células/μl, mientras que en ratones heterocigotos (+/-) el número medio de neutrófilos era 1380 ± 1140 células/μl y en ratones genéticamente intactos (+/+) el número medio de neutrófilos era solo 886 ± 479 células/μl. Igualmente, el número medio de monocitos en ratones homocigotos (-/-) era 950 ± 218 células/μl, mientras que en ratones heterocigotos (+/-) el número medio de monocitos era 250 ± 108 células/μl y en ratones genéticamente intactos (+/+) el número medio de monocitos era solo 146 ± 92 células/μl. Igualmente con lo eosinófilos, el número medio de eosinófilos en ratones homocigotos (-/-) era 247 ± 297 células/μl, mientras que en ratones heterocigotos (+/-) el número medio de eosinófilos era 8 ± 8 células/μl y en ratones genéticamente intactos (+/+) el número medio de eosinófilos era solo 14 ± 21 células/μl.

20 Los mismo era cierto para los basófilos. El número medio de basófilos en ratones homocigotos (-/-) era 130 ± 90 células/μl, en ratones heterocigotos (+/-) el número medio de basófilos era 7 ± 5 células/μl y en ratones genéticamente intactos (+/+) el número medio de basófilos era solo 16 ± 11 células/μl.

25 Igualmente, el número medio de monocitos en ratones homocigotos (-/-) era 950 ± 218 células/μl, mientras que en ratones heterocigotos (+/-) el número medio de monocitos era 250 ± 108 células/μl y en ratones genéticamente intactos (+/+) el número medio de monocitos era solo 146 ± 92 células/μl. Igualmente con los eosinófilos, el número medio de eosinófilos en ratones homocigotos (-/-) era 247 ± 297 células/μl, mientras que en ratones heterocigotos (+/-) el número medio de eosinófilos era 8 ± 8 células/μl y en ratones genéticamente intactos (+/+) el número medio de eosinófilos era solo 14 ± 21 células/μl.

6.3. Síntesis de la oxima de la (E/Z)-1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)-etanona

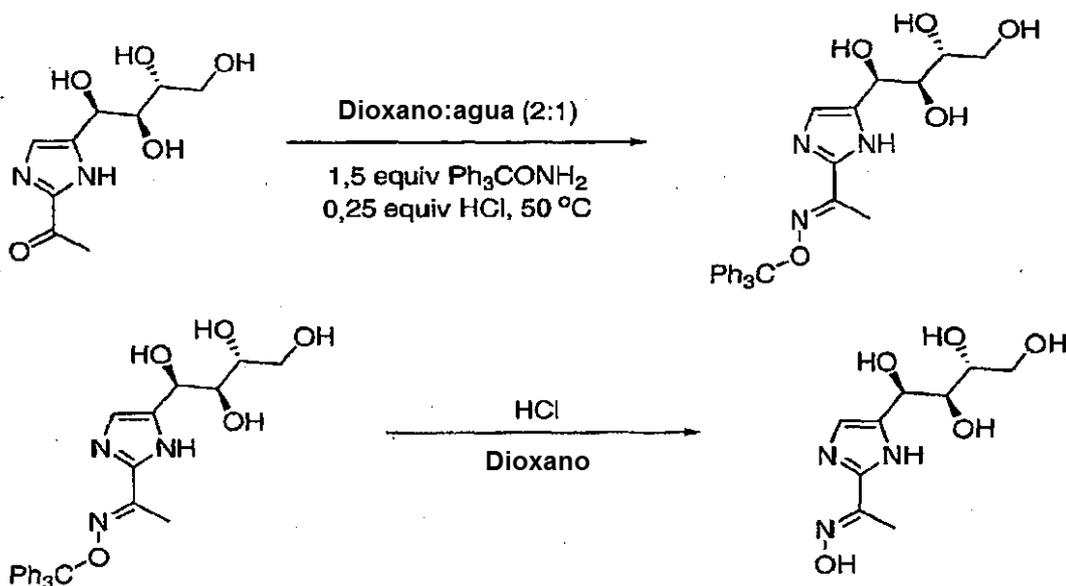


30 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (THI, preparada de acuerdo con Halweg, K.M. y Büchi, G., *J. Org. Chem.* 50:1134-1136 (1985)) (350 mg, 1,52 mmol) se suspendió en agua (10 ml). Se añadieron hidrocloreto de hidroxilamina (126,8 mg, 1,82 mmol, 1,2 eq.) y acetato sódico (247,3 mg, 3,04 mmol, 2 eq.) y la suspensión se agitó a 50°C. La mezcla de reacción se volvió transparente después de aproximadamente 4 h. La agitación se continuó a 50°C durante 16 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se pasó a través de un filtro de porosidad fina. Esta disolución se usó directamente para purificar el producto usando HPLC preparativa: columna de sílice Atlantis HILIC 30 x 100 mm; agua en acetonitrilo al 2% -21% a lo largo de 6 minutos; 45 ml/min; con detección a 254 nm. Se recogieron las fracciones de producto y el acetonitrilo se evaporó a presión reducida. La disolución acuosa se liofilizó para dar el producto, una mezcla de isómeros anti:sin de aproximadamente 3:1, en forma de un sólido blanco: 284 mg (77%).

40 LCMS: columna Sunfire C-18, 4,6x50 mm; MeOH (TFA al 0,1%) en agua (TFA al 0,1%) al 0-17% a lo largo de 5 min; caudal = 3 ml/min; Detección 220 nm; Tiempos de retención: 0,56 min (isómero sin, 246,0 (M+1)) y 0,69 min (isómero anti, 246,0 (M+1)). RMN ¹H (D₂O y DCI) δ 2,15 y 2,22 (singletes, 3H), 3,5-3,72 (m, 4H), 4,76 (ancho, protones de OH y H₂O), 4,95 y 4,97 (singletes, 1H), 7,17 y 7,25 (singletes, 1H). RMN ¹³C (D₂O y DCI) δ 10,80, 16,76, 63,06, 64,59, 64,75, 70,86, 72,75, 72,85, 117,22, 117,64, 135,32, 138,39, 141,35, 144,12.

45 6.4. Síntesis de la oxima de la (E)-1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)-etanona

Este compuesto se preparó en dos etapas, como se muestra a continuación



Primero, a un matraz cargado con THI (21,20 mmol, 4,88 g) se añade agua (25 ml) y HCl acuoso 1 N (21,2 ml, 21,2 mmol). Después de disolverse todos los sólidos, se añadió una disolución de tritilo-hidroxilamina (25,44 mmol, 7,00 g) en dioxano (55 ml) y la reacción se mantuvo a 50°C durante 4 h. Al completarse, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, y la disolución se ajustó a pH = 7 por adición de NaOH acuoso 1 N. Después, la disolución neutralizada se concentró hasta una masa plástica, que se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice [10% de MeOH/1% de NH₄OH (disolución al 5% en peso en agua) en DCM] para proporcionar el éter de tritilo en forma de un plástico transparente. El tratamiento de la masa plástica con hexano y la concentración proporcionaron una espuma blanca, que se podía secar a vacío hasta un sólido escamoso (10,00 g, 97% de rendimiento).

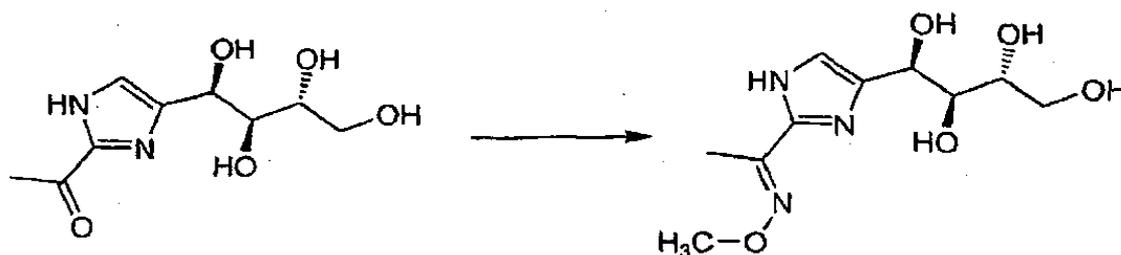
5

10

Segundo, a una disolución a temperatura ambiente, enérgicamente agitada, del éter de tritilo de la oxima (4,8 g, 10 mmol) en dioxano (90 ml) se añade una disolución de HCl en dioxano (4 M, 60 ml). Después de unos minutos, se observa un precipitado blanco, y la agitación se continúa durante un total de 30 min, antes de filtrar por un filtro de vidrio sinterizado y lavar la torta de filtración con dioxano y éter. La torta de filtración se disolvió en agua (200 ml), se trató con ultrasonidos durante 5 min, después se enfrió a 0°C, se trató con Celite (5 g) y se filtró por un filtro de vidrio sinterizado. La disolución acuosa se concentró hasta sequedad y después se aisló en metanol (30 ml) /éter dietílico (60 ml) para proporcionar la oxima E en forma de un polvo blanco analíticamente puro (3,8 g, 80% de rendimiento).

15

6.5. Síntesis de la O-metil-oxima de la (Z)-1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etanona



20

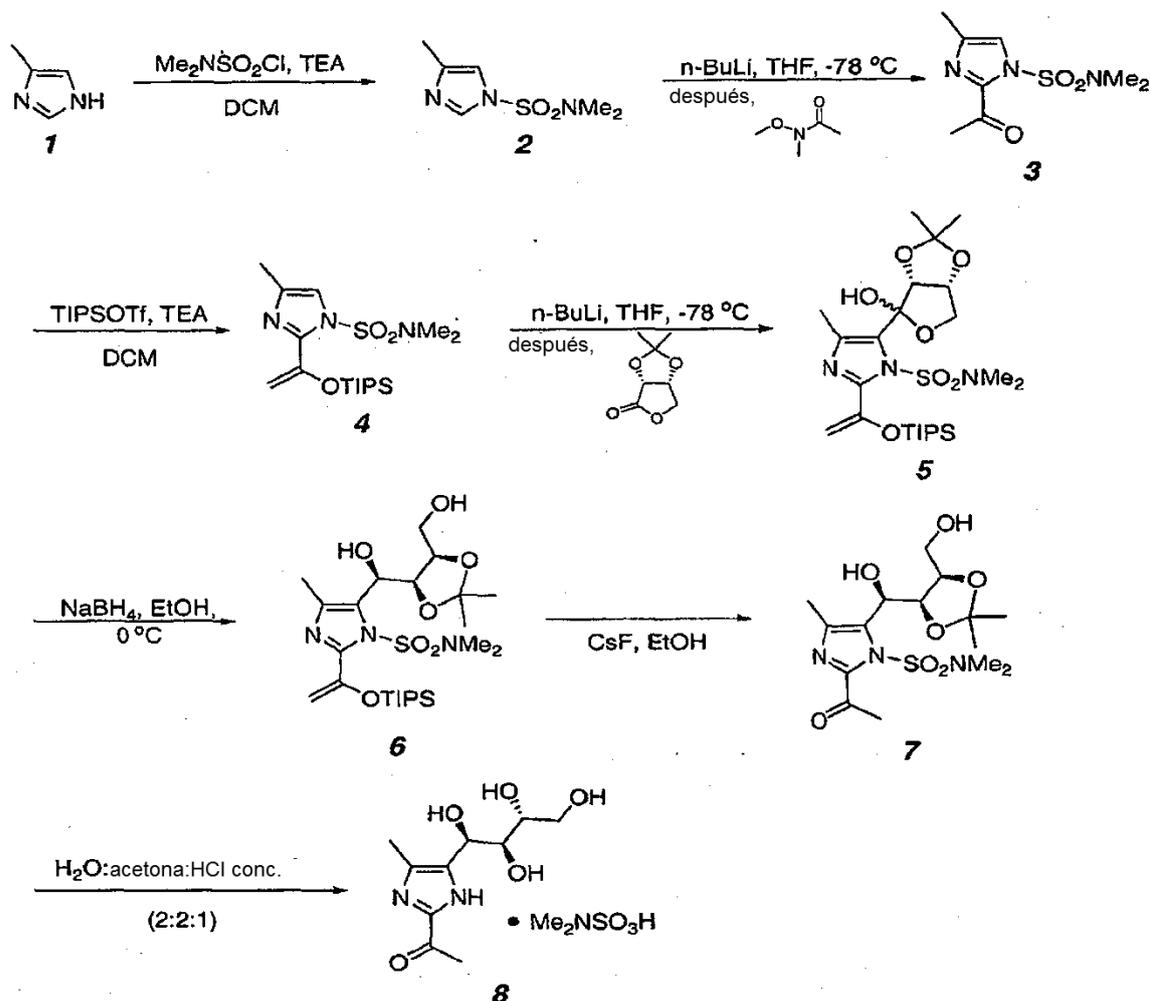
El compuesto del título se preparó como se ha descrito antes en el ejemplo 6.3, usando hidrocloreuro de metoxilamina en lugar de hidrocloreuro de hidroxilamina, con 74% de rendimiento. El producto era un sólido esponjoso.

25

LCMS: columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; MeOH (TFA al 0,1%) en agua (TFA al 0,1%) al 0-17% a lo largo de 5 min; caudal = 3 ml/min; Detección 220 nm; Tiempos de retención: 1,59 minutos (isómero sin, 260,1 (M+1)) y 1,73 min (isómero anti, 260,1 (M+1)). RMN ¹H (D₂O) δ 2,18 y 2,22 (singletes, 3H), 3,54-3,60 (m, 1H), 3,66-3,79 (m, 3H), 3,94 y 3,95 (singletes, 3H), 4,76 (ancho, protones de OH y H₂O), 4,93 y 4,97 (singletes, 1H), 7,17 y 7,25 (singletes, 1H). RMN ¹³C (D₂O) δ 11,55, 17,56, 62,32, 62,38, 62,99, 63,07, 67,09, 71,54, 73,86, 119,09, 138,64, 139,79, 142,95, 144,98, 148,97.

6.6. Síntesis de 1-(5-metil-4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etanona

El compuesto del título se preparó en 7 etapas, usando el procedimiento resumido a continuación.



4-Metilimidazol-1-dimetilaminosulfonamida (2): A una disolución a temperatura ambiente del 4-metilimidazol 1 (3,00 g, 36,54 mmol) en tolueno (200 ml) se añadió consecutivamente trietilamina 5,6 ml, 40,20 mmol) y cloruro de N,N-dimetilaminosulfamoilo (3,9 ml, 36,54 mmol). El recipiente se almacenó en un frigorífico a 5°C durante 48 h, después los sólidos se separaron por filtración de la reacción y las aguas madre se concentraron para obtener una mezcla de los regioisómeros 2 y 2a de 2,5:1. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (eluyente acetato de etilo:hexano al 80-100%) para obtener una mezcla de regioisómeros 2:2a de 5,5:1 (4,31 g, 62% de rendimiento): M+1 = 190,1.

5

4-Metil-2-acetilimidazol-1-dimetilaminosulfonamida (3): A una disolución a -78°C del imidazol 2 (1,99 g, 10,54 mmol) en tetrahidrofurano (70 ml) se añadió lentamente una disolución de *n*-BuLi en hexano (2,5 M, 11,60 ml). Después de 40 minutos, se añadió gota a gota N-metoxi-N-metilacetamida (1,30 g, 12,65 mmol) a la disolución enfriada. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se mantuvo durante 2 h. Al completarse, la reacción se inactivó por adición de disolución acuosa saturada de NH₄Cl (20 ml), y después se diluyó con agua (20 ml). Se separaron las capas, y la capa orgánica se lavó con acetato de etilo (2×30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en sílice (eluyente acetato de etilo:hexano al 60-80%) para proporcionar el compuesto 3 en forma de un aceite (1,85 g, 76% de rendimiento): M+1 = 232,1.

10

15

4-Metil-2-(1-(trisisopropilsililo)vinil)-1-dimetilaminosulfonamida (4): A una disolución del imidazol 3 (1,65 g, 7,14 mmol) en diclorometano (45 ml) se añadió consecutivamente trietilamina (1,00 ml, 14,28 mmol) y trifluorometanosulfonato de triisopropilsililo (2,12 ml, 7,86 mmol). La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 20 h, después se inactivó por adición de disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (20 ml). La mezcla se diluyó con agua (20 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se lavó con diclorometano (2×20 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución de salmuera (20 ml), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El aceite resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente metanol:diclorometano al 1-2%) para proporcionar el éter de sililo del enol 4 en forma de un aceite naranja (2,26 g, 83% de rendimiento): M+1 = 388,2.

20

25

Lactol (5): A una disolución a -78°C del imidazol 4 (2,26 g, 5,84 mmol) en tetrahidrofurano (40 ml) se añadió

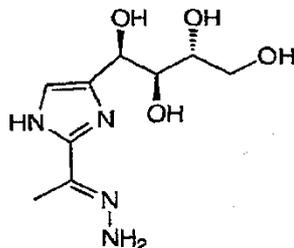
5 lentamente una disolución de *n*-BuLi en hexano (2,5 M, 3,27 ml). Después de 30 minutos, se añadió lentamente una disolución de (-)-2,3-O-isopropilidín-D-eritronolactona (1,66 g, 10,51 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) a la disolución a -78°C. La reacción se mantuvo a -78°C durante 2 h, después se dejó calentar a 0°C antes de inactivar la reacción por adición de disolución acuosa saturada de NH₄Cl (20 ml). La mezcla se diluyó con agua (10 ml) y las capas se separaron. Las capas orgánicas se lavaron con acetato de etilo (2×20 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice (eluyente acetato de etilo:hexano al 30-50%) para proporcionar el lactol 5 (2,69 g, 85% de rendimiento) en forma de una espuma blanca: M+1 = 546,4.

10 Diol (6): A una disolución a 0°C del lactol 5 (2,09 g, 3,83 mmol) en etanol (70 ml) se añadió NaBH₄ granular (1,4 g, 38,32 mmol) en unas porciones. Después de 2 h, la reacción se calentó a temperatura ambiente durante 30 min y después se concentró. El residuo se volvió a disolver en agua (40 ml) y acetato de etilo (40 ml). La mezcla bifásica se agitó enérgicamente durante 10 min, y después se separaron las capas. La capa acuosa se lavó con acetato de etilo (2×40 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), después se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. La espuma bruta se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (eluyente metanol:diclorometano al 5%) para proporcionar el diol 6 (1,88 g, 90% de rendimiento) como una mezcla 3:1 de diastereoisómeros inseparables en la posición bencílica: M+1 = 547,4.

20 Imidazol (7): Se añadió fluoruro de cesio (315 mg, 2,08 mmol) a una disolución del imidazol 6 (567 mg, 1,04 mmol) en etanol (10 ml) y se calentó a 65°C. Después de 1 h, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se trató con disolución acuosa saturada de NH₄Cl (1 ml), y después se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente metanol:diclorometano al 5%) para proporcionar el imidazol 7 (380 mg, 94% de rendimiento) en forma de una espuma blanca: M+1 = 392,1.

25 Producto final (8): El imidazol protegido 7 (380 mg, 0,97 mmol) se disolvió en acetona (6 ml) y se trató consecutivamente con agua (6 ml) y HCl acuoso concentrado (3 ml). El recipiente se calentó a 40°C durante 45 minutos, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El material bruto se purificó por cromatografía preparativa de fase inversa usando una columna de 150 mm×30 mm Zorbax C-6 usando disolventes no tamponados por el siguiente método: funcionamiento isocrático con acetonitrilo:agua al 1% durante 5 min (T_R=1,52 minutos). Después de liofilización, el compuesto 8 se obtuvo como la sal del ácido dimetilaminosulfámico como sólido amorfo: M+1 = 245,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) mayoritario δ 5,04 (d, 1H), 3,62 (comp. m, 2H), 3,42 (comp. m, 2H), 2,62 (s, 6H), 2,43 (s, 3H), 2,21 (s, 3H); minoritario δ 5,01 (d, 1H), 3,79 (comp. m, 2H), 3,55 (comp. m, 2H), 2,62 (s, 6H), 2,43 (s, 3H), 2,21 (s, 3H).

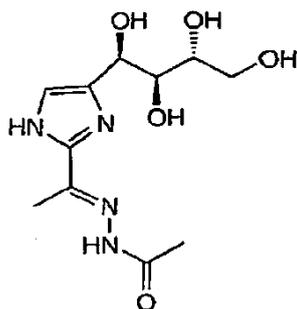
6.7. Síntesis de (1R,2S,3R)-1-(2-(1-hidrazonoetil)-1H-imidazol-4-il)butano-1,2,3,4-tetraol



35 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (THI, preparada de acuerdo con Halweg, K.M. y Büchi, G., *J. Org. Chem.* 50:1134-1136 (1985)) (148 mg, 0,64 mmol) se suspendió en metanol (3 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazina hidrato (35 mg, 0,7 mmol, 1,2 eq.) y ácido acético (1 gota), y la suspensión se agitó a 50°C durante 6 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con tetrahidrofurano. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con tetrahidrofurano para dar el producto, una mezcla de isómeros E:Z de aproximadamente 3:1, en forma de un sólido blanco: 90 mg (58%).

40 LCMS: Columna Zorbax C-8, 4,6×150 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% a lo largo de 6 min; caudal = 2 ml/min; Detección 220 nm; Tiempos de retención: 0,576 min (isómero sin, 245,0 (M+1)) y 1,08 min (isómero anti, 245,0 (M+1)). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 2,5 (singlete, 3H bajo el DMSO), 3,4-3,7 (m, 4H), 4,3 (m, 2H), 4,6 (m, 2H), 4,8 (m, 1H), 4,9 y 5,0 (dobletes, 1H), 7,04 y 7,21 (singletes, 1H).

6.8. Síntesis de N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)acetohidrazida

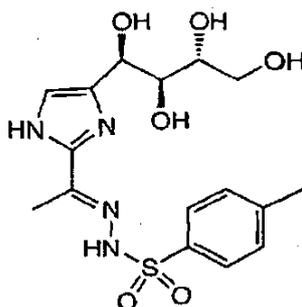


5 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (160 mg, 0,70 mmol) se suspendió en metanol (3 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida acética (56 mg, 0,75 mmol, 1,2 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 50°C durante 48 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con tetrahidrofurano. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con tetrahidrofurano para dar el producto, una mezcla de isómeros E:Z de aproximadamente 3:1, en forma de un sólido blanco: 129 mg (65%).

10 LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 2-20% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,53 min (287,1 (M+1)). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 2,2 (singletes, 3H), 2,5 (singletes, 3H under DMSO), 3,4-3,7 (m, 4H), 4,3 (ancho, 2H), 4,6-5,0 (ancho, 4H), 7,0 (ancho, 1H), 10,30 y 10,37 (singletes, 1H).

6.9. Síntesis de

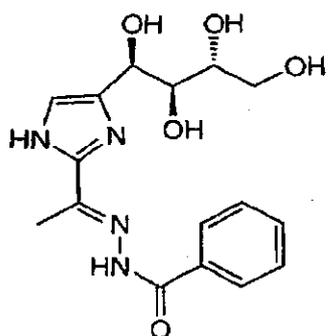
(E)-4-metil-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzenosulfonohidrazida



15 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butyl)-1H-imidazol-2-il]-etanona (153 mg, 0,67 mmol) se suspendió en metanol (3 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida de p-toluenosulfonilo (140 mg, 0,75 mmol, 1,2 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 50°C durante 24 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se cargó en secó en gel de sílice. La cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (10 g de SiO₂, acetato de etilo:metanol 4:1) dio el producto, una mezcla de isómeros E:Z de aproximadamente 85:15, en forma de un sólido blanco: 142 mg (53%).

20 LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% en agua (acetato amónico 10 mM) a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempos de retención: 0,50 min (399,2 (M+1)) y 0,66 min (399,3 (M+1)). RMN ¹H (Metanol-d₄) δ 2,2 (singletes, 3H), 2,41 y 2,45 (singletes, 3H), 3,6-3,85 (m, 4H), 4,99 y 5,05 (singletes, 1H), 7,09 (s ancho, 1H), 7,39 (d, 2H, j=8 Hz), 7,77 y 7,87 (d, 2H, j=8 Hz).

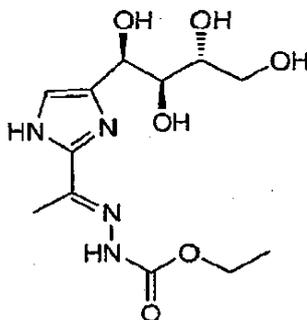
25 6.10. Síntesis de N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida



La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (150 mg, 0,65 mmol) se suspendió en metanol (3 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida del ácido benzoico (102 mg, 0,75 mmol, 1,2 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 50°C durante 18 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción homogénea se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a vacío. La SPE de fase inversa C-18 (10 g Alltech Hi-load C18, gradiente de agua a metanol/agua al 20%) dio el producto, una mezcla de isómeros E:Z de aproximadamente 1:1, en forma de un sólido incoloro: 193 mg (85%).

5
10
LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,49 min (349,2 (M+1)). RMN ¹H (Metanol-d₄) δ 2,2 (singletes, 3H), 2,42 and 2,45 (singletes, 3H), 3,6-3,85 (m, 4H), 5,11 and 5,14 (singletes, 1H), 7,30 (s ancho, 1H), 7,40-7,7 (m, 4H), 7,80 and 7,95 (m, 2H), 8,1 (s ancho, 1H).

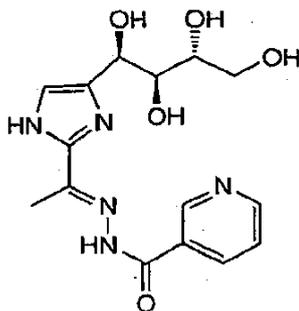
6.11. Síntesis de (E)-2-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)hidrazinocarboxilato de etilo



15
20
La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (150 mg, 0,65 mmol) se suspendió en metanol (3 ml) y agua (1 ml). Se añadieron carbazato de etilo (78 mg, 0,75 mmol, 1,2 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 50°C durante 18 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se concentró a vacío, y se diluyó con acetona. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con acetona para dar el producto, un isómero evidente en forma de un sólido blanco: 96 mg (47%).

LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 2-20% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,25 min (317,35 (M+1)). RMN ¹H (Metanol-d₄) δ 1,36 (t, 3H, j=8 Hz), 2,28 (s, 3H), 2,42 and 2,45 (singletes, 3H), 3,60-3,85 (m, 4H), 4,34 (dd, 2H, j=8 Hz), 5,08 (s, 1H), 7,27 (s, 1H).

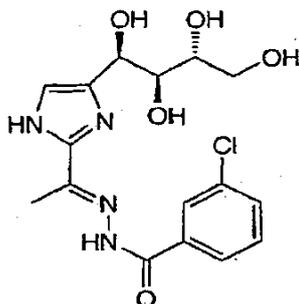
25 6.12. Síntesis de (E)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida



30
La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (215 mg, 0,93 mmol) se suspendió en metanol (3 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida del ácido nicotínico (137 mg, 1,0 mmol, 1,1 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 50°C durante 48 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró parcialmente a vacío. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con agua para dar el producto, un isómero evidente, en forma de un sólido blanco: 311 mg (95%).

35
LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,22 min (350,27 (M+1)). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 2,37 (s, 3H), 3,60-3,85 (m, 4H), 4,40 (m, 2H), 4,71 (m, 1H), 5,01 (m, 2H), 5,16 (m, 1H), 7,25 (ancho, 1H), 7,64 (ancho, 1H), 8,35 (ancho, 1H), 8,80 (ancho, 1H), 9,14 (ancho, 1H).

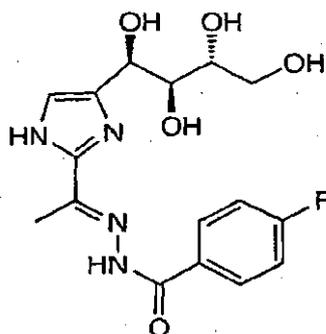
6.13. Síntesis de 3-cloro-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida



5 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (194 mg, 0,84 mmol) se suspendió en etanol (4 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida del ácido 3-clorobenzoico (170 mg, 1,0 mmol, 1,2 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 50°C durante 48 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró parcialmente a vacío. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con etanol para dar el producto, como una mezcla E:Z ~3:1, en forma de un sólido blanco: 108 mg (33%).

10 LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,63 min (383,23 (M+1)). RMN ¹H (Metanol-d₄) δ 2,44 (s, 3H), 3,60-3,90 (m, 4H), 5,12 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,65 (m, 2H), 8,04 (m, 2H).

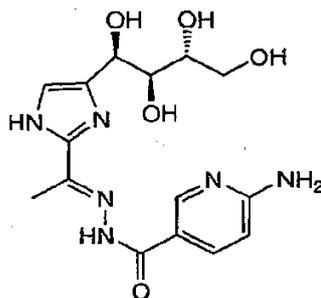
6.14. Síntesis de (E)-4-fluoro-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida



15 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (172 mg, 0,74 mmol) se suspendió en etanol (4 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida del ácido 4-fluorobenzoico (131 mg, 0,85 mmol, 1,1 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 55°C durante 48 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró parcialmente a vacío. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con etanol para dar el producto, como un isómero evidente, en forma de un sólido blanco: 97 mg (35%).

20 LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,55 min (367,24 (M+1)). RMN ¹H (Metanol-d₄, 1 gota de DCI) δ 2,55 (s, 3H), 3,60-3,90 (m, 4H), 5,22 (s, 1H), 7,30 (m, 2H), 7,54 (s, 1H), 8,08 (m, 2H).

6.15. Síntesis de (E)-6-amino-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida

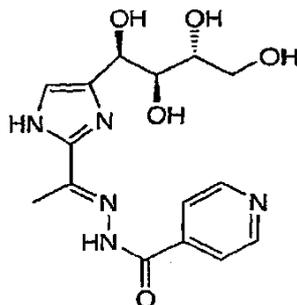


25 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (115 mg, 0,50 mmol) se suspendió en etanol (4 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida sustituida (91 mg, 0,6 mmol, 1,2 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y

la suspensión se agitó a 55°C durante 48 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró parcialmente a vacío. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con etanol para dar el producto, como un isómero evidente, en forma de un sólido blanco: 136 mg (75%).

- 5 LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,15 min (365,32 (M+1)). ¹H RMN (Metanol-d₄, 1 gota de DCI) δ 2,58 (s, 3H), 3,60-3,90 (m, 4H), 5,22 (s, 1H), 7,17 (m, 1H), 7,54 (m, 1H), 8,44 (m, 1H), 8,68 (m, 1H).

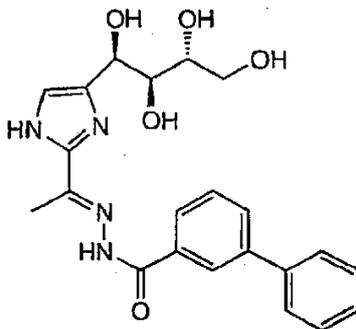
6.16. Síntesis de (E)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)isonicotinohidrazida



- 10 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (168 mg, 0,73 mmol) se suspendió en etanol (4 ml) y agua (1 ml). Se añadieron hidrazida isonicotínica (110 mg, 0,80 mmol, 1,1 eq.) y ácido clorhídrico (1 gota, 12 N), y la suspensión se agitó a 55°C durante 24 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró parcialmente a vacío. El precipitado blanco resultante se recogió y se lavó con etanol para dar el producto, como un isómero evidente, en forma de un sólido blanco: 136 mg (75%).

LCMS: Columna Sunfire C-18, 4,6×50 mm; (acetato amónico 10 mM) en agua al 10-90% a lo largo de 2,5 min; caudal = 3,5 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 0,15 min (365,32 (M+1)). RMN ¹H (Metanol-d₄, 1 gota de DCI) δ 2,63 (s, 3H), 3,60-3,90 (m, 4H), 5,12 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 8,63 (d, 2H, j=8 Hz), 9,14 (d, 2H, j=8 Hz).

6.17. Síntesis de (E)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)bifenil-3-carbohidrazida



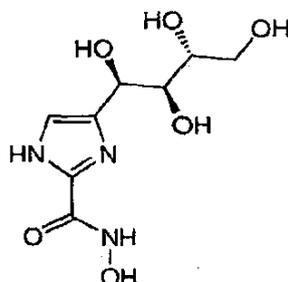
- 20 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxi-butil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (315 mg, 1,36 mmol) y bifenil-3-carbohidrazida (360 mg, 1,81 mmol) se suspendieron en DMSO (2 ml). Se añadió ácido clorhídrico concentrado (dos gotas), y la suspensión se agitó a 40°C durante 5 h. El análisis por LCMS indicaba la formación del producto y la ausencia de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con metanol y se purificó por HPLC de fase inversa (NH₄OAc/acetonitrilo 10 mM). Se recogieron dos fracciones (isómeros E y Z) de la masa deseada por separado y se liofilizaron. La fracción uno proporcionó un sólido blanco, 95 mg (16%). La fracción dos era un sólido blanco, 82 mg (14%).

- 30 Fracción uno: HPLC analítico, Columna Zorbax C-8, 4,6×150 mm; Disolvente A = acetato amónico 10 mM; Disolvente B = MeCN; 5% de B en 0 min, 5% de B en 1 min, 90% de B en 3 min, 4 min parada; caudal = 3 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 2,9 min (nota: contiene ~5% del otro isómero). M+H = 425,28. RMN ¹H (DMSO-d₆ con 2 gotas de D₂O) δ 2,3 (singlete, 3H), 3,3-3,7 (m, 4H), 4,9 (m, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,37 (m, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,67 (m, 3H), 7,85-7,92 (m, 2H) and 8,15 (s, 1H). El HSQC de la misma muestra correlacionaba la señal de protón a 2,3 (CH₃) con una señal de carbono a 20 ppm.

- 35 Fracción dos: HPLC analítico, Columna Zorbax C-8, 4,6×150 mm; Disolvente A = acetato amónico 10 mM; Disolvente B = MeCN; 5% de B en 0 min, 5% de B en 1 min, 90% de B en 3 min, 4 min parada; caudal = 3 ml/min; Detección 220 nm; Tiempo de retención: 2,963 min (nota: contiene ~6% del otro isómero). M+H = 425,28. RMN ¹H

(DMSO-d₆ con 2 gotas de D₂O) δ 2,4 (singlete, 3H), 3,4-3,6 (m, 4H), 4,77 y 4,86 (singletes anchos, combinados = 1H), 6,9 y 7,1 (singletes anchos, combinados = 1H), 7,40 (m, 1H) 7,50 (m, 2H), 7,61 (m, 1H), 7,73 (m, 2H), 7,87 (m, 2H) y 8,10 (s, 1H). El HSQC de la misma muestra correlacionaba la señal de protón a 2,4 (CH₃) con una señal de carbono a 13 ppm.

5 6.18. Síntesis de N-hidroxi-4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-carboxamida



10 La 1-[4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il]-etanona (18 g, 78,3 mmol) se suspendió en dicloroetano (160 ml) y 2,2-dimetoxipropano (160 ml). Se añadió ácido 4-toluenosulfónico (3 g) y la mezcla se agitó a 70°C durante 18 h. La reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con agua, salmuera al 5%, salmuera y después se cargó en SiO₂. La purificación por cromatografía ultrarrápida (hexano/acetato de etilo) proporcionó la 1-(4-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetrametil-4,4'-bi(1,3-dioxolan)-5-il)-1H-imidazol-2-il)etanona en forma de un aceite incoloro (18,8 g, 60,6 mmol, 77%; M+H calculado: 311,4, observado: 311,3).

15 El producto obtenido antes (20 g, 64,5 mmol) se disolvió en DMF. Se añadió K₂CO₃ (12,5 g, 90,3 mmol) seguido de bromuro de bencilo (10,7 ml, 90,3 mmol). La reacción se calentó a 50°C durante 18 h. El análisis por LC/MS indicaba que quedaba material de partida. Se añadió una porción adicional de bromuro de bencilo (5 ml, 42 mmol) y la temperatura se aumentó a 60°C. Después de 3 h la reacción se inactivó con agua fría y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se lavaron con agua, después salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se cargaron en gel de sílice. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo en hexano de 20 a 40%) proporcionó la 1-(1-bencil-4-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetrametil-4,4'-bi(1,3-dioxolan)-5-il)-1H-imidazol-2-il)etanona (16,1 g, 62%).

20 El compuesto intermedio obtenido (13 g, 32,5 mmol) se disolvió en dioxano (120 ml) y se trató con NaOH (13,2 g) disuelto en lejía comercial (200 ml, NaOCl al 6%). Después de 2 h de agitación enérgica, la reacción se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera y después se secaron sobre Celite. La filtración y evaporación proporcionaron un sólido que se secó más a vacío para dar el ácido 1-bencil-4-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetrametil-4,4'-bi(1,3-dioxolan)-5-il)-1H-imidazol-2-carboxílico (13 g, rendimiento cuantitativo, M+H calculado: 403,2, observado: 403,2).

30 El producto obtenido antes (600 mg, 1,49 mmol), O-tritilhidroxilamina (820 mg, 2,98 mmol), EDAC (430 mg, 2,24 mmol) y HOBt (305 mg, 2,24 mmol) se combinaron con DMF (8 ml) y trietilamina (622 µl, 4,47 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 22 h, se concentró y después se cargó sobre sílice usando DCM/MeOH. La cromatografía ultrarrápida (MeOH/DCM) proporcionó la 1-bencil-4-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetrametil-4,4'-bi(1,3-dioxolan)-5-il)-N-(tritiloxi)-1H-imidazol-2-carboxamida (480 mg, 0,73 mmol, 49%, M+H calculado: 660,3, observado: 660,4).

35 El producto obtenido antes (480 mg, 0,73 mmol) se disolvió en etanol (50 ml). Se añadió Pd(OH)₂ (500 mg, 20% sobre carbón húmedo) y la reacción se agitó en atmósfera de H₂ (65 psi (4,55 kg/cm²)) durante 18 h y se filtró. El etanol se separó a vacío. El residuo se disolvió en DCM y se purificó por cromatografía ultrarrápida (MeOH/DCM) para proporcionar la N-hidroxi-4-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetrametil-4,4'-bi(1,3-dioxolan)-5-il)-1H-imidazol-2-carboxamida (150 mg, 0,46 mmol, 63%, M+H calculado: 328,1, observado: 328,3).

40 El producto obtenido antes (150 mg, 0,46 mmol) se disolvió en acetona (8 ml) y agua (8 ml). La reacción se enfrió a una temperatura interna de -15°C usando un baño de hielo seco/acetona. Se añadió HCl concentrado (3 ml) a una velocidad tal que la temperatura interna permaneciera por debajo de -10°C. El baño frío se retiró y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h, a 4°C durante 18 h y de nuevo a temperatura ambiente durante 7 h. Después de separar la acetona y algo de agua a vacío, se formó un precipitado. Se añadió dioxano (20 ml) seguido de THF (10 ml). El sólido se aisló por filtración, se lavó con THF/dioxano y se secó a vacío para proporcionar la N-hidroxi-4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-carboxamida como la sal de hidrocloreuro (98 mg, 0,40 mmol, 87%).

45 Espectrometría de masas: M+H calculado: 248,1, observado: 248,2. HPLC analítico: Luna Pheny-Hexyl, 5 µm, 4,6×50 mm, acetato amónico 10 mM con acetonitrilo al 1% isocrático, caudal = 3 ml/min, detección 220 nm, tiempo de retención = 0,245 min. RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 3,37-3,64 (m, 4H), 4,96 (singlete ancho, 1H), 7,47 (s, 1H), 11,9 (singlete ancho, 1H).

6.19. Medición de los efectos en los linfocitos de ratones

Se administraron compuestos por alimentación con sonda oral o en el agua para beber. Para los experimentos de dosificación oral, los compuestos se volvieron a suspender a partir de los cristales con 10 mg/ml en vehículo (p. ej., agua). Se alimentó por sonda a ratones (híbridos F1 de la cepa 129/B6) con una sola dosis de compuesto de 100 mg/kg (equivalente a 100 mg/kg de la base libre para cada compuesto) o un control solo con vehículo, y se devolvieron a las jaulas. Los ratones se anestesiaron usando isoflurano 18 h después de la dosificación y se recogieron los tejidos para el análisis como se describe a continuación. Para los estudios del agua para beber, los compuestos se disolvieron a 50 mg/l en agua acidificada (pH = 2,8) que contenía glucosa 10 g/l. Se dejó a los ratones acceso libre al agua que contenía compuesto (o disolución de glucosa como control) durante 72 h. Al final de las 72 h, se recogieron los tejidos para el análisis.

Las mediciones de CBC se obtuvieron como sigue. Los ratones se anestesiaron con isoflurano y se recogió sangre del plexo retroorbital en tubos de recolección de sangre con EDTA (Capiject-MQK, Terumo Medical Corp., Elkton, MD). El análisis de CBC automático se llevó a cabo usando un instrumento Cell-Dyn 3500 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL) o un HemaVet 850 (Drew Scientific, Inc., Oxford, CT).

Las mediciones por citometría de flujo (FACS) se obtuvieron como sigue. Se lisaron 25 μ l de sangre entera por choque hipotónico, se lavaron una vez en 2 ml de tampón de lavado de FACS (FWB: PBS/BSA al 0,1%/NaN₃ al 0,1%/EDTA 2 mM) y se tiñeron durante 30 min a 4°C en la oscuridad con una combinación de fluorocromo-anticuerpos conjugados diluidos en 50 μ l de FWB. Después de tinción, las células se lavaron una vez con 2 ml de FWB y se volvieron a suspender en 300 μ l de FWB para la adquisición de datos.

Se siguieron procedimientos convencionales para la extracción no estéril del bazo y timo. Los órganos se dispersaron en suspensiones unicelulares, forzando el tejido a través de un filtro celular de 70 μ m (Falcon, Becton Dickinson Labware, Bedford, MA). Para el análisis por FACS, los RBC se lisaron por lisis hipotónica, se lavaron, y se incubaron 1×10^6 células con 10 μ l de anti-CD16/CD32 (Fc Block™, BD-PharMingen, San Diego, CA) (dilución 1/10 en FWB) durante 15 minutos a 4°C. Las células se tiñeron con una combinación de fluorocromo-anticuerpos conjugados diluida en 50-100 μ l de FWB, y se añadieron directamente a las células en Fc Block, durante 30 min a 4°C en la oscuridad. Después de la tinción, las células se lavaron una vez con 1 ml de FWB, y se volvieron a suspender en 300 μ l de FWB para la adquisición de datos. Todos los anticuerpos se adquirieron en BD-PharMingen, San Diego, CA, salvo que se especifique otra cosa. Las muestras se analizaron usando un citómetro de flujo FACSCalibur y el software CellQuest Pro (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA).

Las mezclas de anticuerpos usadas para el timo eran: TCRb APC Cy7; CD4 APC; CD8 PerCP; CD69 FITC; y CD62L PEI. Las mezclas de anticuerpos usadas para el bazo y la sangre eran: B220 PerCP; TCRb APC; CD4 APC Cy7; CD8 PE Cy7; CD69 FITC; y CD62L PE.

6.20. Medición de los efectos en los niveles de S1P en ratones

Los niveles de S1P en ratones (híbridos F1 de la cepa 129/B6) se midieron usando una adaptación del ensayo de unión de radioreceptor descrito en Murata, N., et al., *Anal. Biochem.* 282:115-120 (2000). Este método usaba células HEK293F que expresaban en exceso Edg-1, uno de los subtipos de receptor de S1P, y se basaba en la competición de S1P marcado con S1P no marcado en una muestra dada.

Las células HEK293F se transfectaron con vector de expresión del receptor de S1P (Edg-1) pEFneo y se seleccionó un clon celular resistente a G418. Las células HEK293F que expresaban Edg-1 se cultivaron en 12 multiplacas en DMEM que contenía FBS al 5% (v/v) en una atmósfera de aire humidificado:CO₂ (19:1). 24 h antes del experimento, el medio se cambió por DMEM reciente (sin suero) que contenía BSA al 0,1% (p/v).

18 h después de administrar el compuesto de ensayo, los ratones se sacrificaron y se extrajeron sus bazos y se congelaron. El S1P se obtuvo del tejido congelado usando métodos conocidos. Véase, p. ej., Yatomi, Y., et al., *FEBS Lett.* 404:173-174 (1997). En particular, se homogeneizaron 10 bazos de ratones en 1 ml de tampón de fosfato 50 mM enfriado con hielo (pH 7,5) que contenía EGTA 1 mM, DTT 1 mM e inhibidores de proteasa completo de Roche, tres veces en intervalos de 1 min, sobre hielo. El resultado se centrifugó a 2500 rpm y 4°C durante 10 min para separar los desechos celulares. Después, el líquido sobrenadante se ultracentrifugó a 45000 rpm y 4°C en un rotor 70Ti durante 1 h para llevar hacia abajo las proteínas asociadas a membrana. El líquido sobrenadante se descartó, y el sedimento se volvió a suspender en el volumen mínimo (~1 ml) de tampón de fosfato 50 mM enfriado con hielo (pH 7,5) que contenía EGTA 1 mM, DTT 1 mM y glicerol al 33% con inhibidores de proteasa completo de Roche presentes. La concentración total de proteína se midió usando el ensayo de Bradford.

El S1P se extrajo en cloroformo/KCl/NH₄OH (pH ~ 12), y se guardó la fase acuosa superior. Después se extrajo con cloroformo/metanol/HCl (pH<1), y se guardó la fase orgánica inferior y se evaporó para proporcionar el S1P, que se almacenó en un frigorífico hasta su uso. Justo antes del ensayo, la muestra seca se disolvió por tratamiento con ultrasonidos en un tampón ligante que consistía en Tris-HCl 20 mM (pH 7,5), NaCl 100 mM, NaF 15 mM y BSA al 0,4% (p/v).

El contenido de S1P de una muestra se midió por un ensayo de unión de radioreceptor basado en una unión

competitiva de [³³P]S1P con S1P en la muestra en células que expresaban Edg-1. Las células HEK293F que expresaban Edg-1 en 12 multiplacas confluentes se lavaron dos veces con tampón de unión enfriado con hielo y después se incubaron con el mismo tampón que contenía [³³P]S1P 1 nM (aproximadamente 18,00 dpm por pocillo) y dosis crecientes de S1P auténtico o muestra de ensayo en un volumen final de 0,4 ml. Las placas se mantuvieron sobre hielo durante 30 min, y las células se lavaron dos veces con el mismo tampón de unión enfriado con hielo para separar el ligando no unido. Las células se solubilizaron con una disolución compuesta de SDS al 0,1%, NaOH al 0,4% y Na₂CO₃ al 2%, y se contó la radiactividad por un contador de centello de líquidos. El contenido de S1P en el pocillo de ensayo se calculó por extrapolación a partir de la curva de desplazamiento patrón. El contenido de S1P en la o las muestras de ensayo iniciales se calculó multiplicando el valor obtenido de la curva patrón por la eficacia de recuperación de la extracción de S1P y el factor de dilución.

6.21. Efectos de los compuestos en linfocitos en ratones

Usando los métodos descritos antes, se determinaron los efectos in vivo de diferentes compuestos. Como se muestran en las figuras 1-3, cuando se administraron a ratones (híbridos F1 de la cepa 129/B6) en el agua para beber, tanto el THI como un compuesto representativo de la invención (compuesto 1) disminuyeron la salida de linfocitos del timo.

La figura 4 muestra los efectos del control con vehículo (agua para beber), THI, compuesto 1 y 1-(4-metil-5-((1S,2R,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)tiazol-2-il)etanona (compuesto 2) en los recuentos de sangre entera. Es interesante que no se observaron los efectos in vivo descritos por Pyne (documento WO 97/46543) para el compuesto 2.

6.22. Modelo de artritis inducida por colágeno.

La artritis inducida por colágeno (CIA) es un modelo ampliamente usado de artritis reumatoide (RA), una enfermedad de las articulaciones causada por procesos autoinmunitarios e inflamatorios. Véase en general, Wooley P.H. et al., *J. Immunol.* 135(4):2443-2451; A. Persidis, *Nature Biotechnology* 17:726-728; *Current Protocols in Immunology* (John Wiley & Son, Inc. 1996). Los primeros estudios establecieron una jerarquía de sensibilidad a la CIA conectada con ciertos haplotipos H-2. Más recientemente, Campbell y colaboradores volvieron a evaluar la CIA en ratones C57BL/129sv (H-2b) y encontraron que los ratones derivados de antecesores C57B6 pueden desarrollar CIA. Campbell I.K., et al. *Eur. J. Immunol.* 30: 1568-1575 (2000).

Aquí, se disolvió colágeno para inyección, colágeno de pollo de tipo II 2 mg/ml (CII) (Sigma) en ácido acético 10 mM por agitación durante la noche a 4°C. El adyuvante completo de Freund (CFA) se adquirió listo para usar (Sigma). Usando una jeringa de vidrio, se emulsionó el CII en un volumen igual de CFA justo antes de la inmunización. Para inmunizar los ratones, se usaron una jeringa de vidrio y una aguja 26G, y se inyectó a los ratones emulsión CII/CFA por vía intradérmica en la base de la cola. Se usaron CFA y 100 µg de CII de pollo en un volumen total de 50 µl de CFA para cada inyección. Se administró una inmunización de refuerzo de 100 µg de CII emulsionado en CFA por la misma ruta 3 semanas después de la inmunización primaria.

La inyección del colágeno llevó al hinchamiento de las almohadillas plantarias y articulaciones de los ratones. Se inspeccionó en los ratones cada 2 a 3 días el inicio de la artritis, que se evaluó por una combinación de mediciones con calibre del grosor de las almohadillas plantarias traseras y la evaluación visual de las articulaciones afectadas de las patas traseras. El avance de la CIA se siguió durante 10 semanas después del inicio de la enfermedad, y después de este tiempo la enfermedad se evaluó por histología de las articulaciones. Se consideró que los ratones eran negativos para la artritis si no desarrollaban CIA en los siguientes 150 días desde la inmunización con colágeno de tipo II.

La presencia o ausencia de artritis en ratones se determinó por un sistema de puntuación visual establecido. En ratones con CIA, puede estar afectada una cualquiera o las cuatro patas. La inflamación en su máximo se extiende desde el tobillo todo a lo largo de los dedos, y se caracteriza por hinchamiento y eritema extremos. Una vez que ha aparecido la artritis, se examinó cada pata de 2 a 3 veces por semana. Para evaluar la gravedad de la inflamación, se usó la puntuación visual ampliamente usada de 0 a 4, en donde: 0 = normal, no hay pruebas de eritema e hinchamiento; 1 = eritema e hinchamiento leve confinados a la parte media de la pata o articulación del tobillo o dedos individuales; 2 = eritema e hinchamiento leve que se extienden al tobillo y parte media de la pata o hinchamiento en más de un dedo; 3 = eritema e hinchamiento moderado que se extienden desde el tobillo a las articulaciones metatarsianas; y 4 = eritema e hinchamiento grave que abarcan el tobillo, pata y dedos.

6.23. Efecto en el modelo de artritis inducida por colágeno

El efecto de un compuesto de la invención en el modelo de CIA se determinó usando 30 ratones (híbridos F1 de la cepa 129/B6) en el modelo descrito antes. Los ratones se dividieron aleatoriamente en dos grupos ocultos, que recibieron 0 mg/kg (control con vehículo) o 100 mg/kg del compuesto. El vehículo era agua destilada estéril. El control con vehículo se administró en 10 µl/g de peso corporal.

La administración se llevó a cabo una vez al día por alimentación por sonda oral. Empezó 3 días antes del inicio del experimento de CIA, y continuó a lo largo de la duración del experimento. La figura 5 muestra el efecto del

compuesto en la CIA a lo largo del tiempo, en donde la puntuación acumulada es la suma de las puntuaciones de las extremidades posteriores y tobillos.

6.24. Efecto de un compuesto en macacos

5 Se investigó el efecto de un compuesto de la invención en 20 macacos cangrejeros, macho, que habían recibido previamente tratamiento, por Covance Research Products Inc. (Alice, TX). Cada animal se identificó con un número tatuado individualmente. Los animales se aclimataron durante aproximadamente 11 días antes de la administración de la dosis. En el momento de la administración de la dosis, se consideró que los animales eran de edad adulta joven/adulta.

10 Durante la aclimatación y el periodo de ensayo, los animales se alojaron en jaulas individuales. Los animales no se mezclaron durante al menos 48 h después de la administración de la dosis para permitir el seguimiento de cualquier efecto relacionado con el vehículo o el artículo de ensayo. Los animales tenían acceso a dieta de primates no certificada a voluntad, excepto como se ha especificado para la administración de dosis. También se les proporcionó frutas y otros regalos, según fuera adecuado, durante los periodos que no eran de ayunas. El agua se proporcionó a voluntad.

15 El compuesto de ensayo se almacenó protegido de la luz en un envase sellado en un desecador en condiciones ambientales (aproximadamente temperatura ambiente). Covance suministró el agua destilada para administración oral a los animales en el grupo de control con vehículo. Las formulaciones de dosis del artículo de ensayo para el ensayo se prepararon el día de la administración. Para cada grupo, se pesó una cantidad adecuada del artículo de ensayo y un volumen adecuado de agua destilada.

20 Todos los animales se dejaron en ayunas durante la noche antes de la administración hasta aproximadamente 4 h después de la dosis. Las dosis individuales se calcularon basadas en los pesos corporales tomados el día de la administración de la dosis.

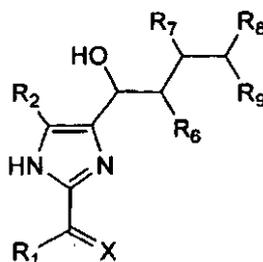
25 La dosis oral se administró mediante intubación nasogástrica. Antes de retirar el tubo de alimentación por sonda, el tubo se lavó por barrido con aproximadamente 5 ml de agua. Para el análisis hematológico, se recogió sangre (aproximadamente 0,5 ml) de cada animal predosis (día -7), predosis (día -3) y a las 8, 16, 24, 32 y 48 h después de la dosis. Los ensayos de hematología de la sangre entera se llevaron a cabo usando muestras recientes obtenidas el día de la recolección.

Como se muestra en la figura 6, una sola dosis oral del compuesto tenía un efecto significativo en los números de leucocitos y linfocitos de los macacos, cuando se midieron 32 h después de la administración de dosis.

30

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula II:



II

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptable, en donde:

5 X es NR₃;

R₁ es OR_{1A}, NHOH, hidrógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido;

R₂ es OR_{2A}, C(O)OR_{2A}, hidrógeno, halógeno, nitrilo, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido;

10 R₃ es OR_{3A}, NHC(O)R_{3A}, NHSO₂R_{3A} o hidrógeno;

R₆ es OR_{6A}, OC(O)R_{6A}, N(R_{6B})₂, NHC(O)R_{6B}, hidrógeno o halógeno;

R₇ es OR_{7A}, OC(O)R_{7A}, N(R_{7B})₂, NHC(O)R_{7B}, hidrógeno o halógeno;

R₈ es OR_{8A}, OC(O)R_{8A}, N(R_{8B})₂, NHC(O)R_{8B}, hidrógeno o halógeno;

R₉ es CH₂OR_{9A}, CH₂OC(O)R_{9A}, N(R_{9B})₂, NHC(O)R_{9B}, hidrógeno o halógeno;

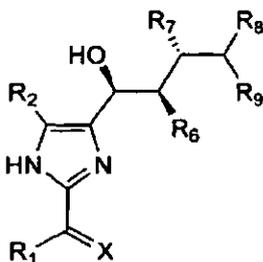
15 cada uno de R_{1A}, R_{2A}, R_{3A}, R_{6A}, R_{7A}, R_{8A} y R_{9A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido; y

cada uno de R_{6B}, R_{7B}, R_{8B} y R_{9B} es independientemente hidrógeno o alquilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos hidroxilo o halógeno.

2.- El compuesto de la reivindicación 1, que es un agente de reducción de linfocitos de la circulación.

20 3.- El compuesto de la reivindicación 1, que es un agente potenciador del nivel de S1P.

4.- El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula II(a):



II(a)

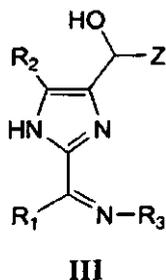
25 5.- El compuesto de la reivindicación 4, en donde R₁ es uno de los siguientes: hidrógeno; alquilo inferior opcionalmente sustituido; NHOH; OR_{1A}, en donde R_{1A} es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido, en donde el alquilo inferior se define como un resto alquilo que tiene de 2 a 4 carbonos.

6.- El compuesto de la reivindicación 4, en donde R₂ es alquilo inferior opcionalmente sustituido y R_{2A} es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido, en donde el alquilo inferior se define como un resto alquilo que tiene de 2 a 4 carbonos.

7.- El compuesto de la reivindicación 4, en donde R_3 es uno de los siguientes: OR_{3A} ; $NHC(O)R_{3A}$; $NHSO_2R_{3A}$ en donde R_{3A} es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido, o donde R_{3A} es arilo o heterociclo opcionalmente sustituido, en donde el alquilo inferior se define como un resto alquilo que tiene de 2 a 4 carbonos.

8.- El compuesto de la reivindicación 4, en donde uno o más de R_6 , R_7 , R_8 y R_9 es hidroxilo o halógeno, o en donde todos de R_6 , R_7 , R_8 y R_9 son hidroxilo o acetato.

9.- Un compuesto de fórmula III:



o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptable, en donde:

Z es alquilo opcionalmente sustituido;

10 R_1 es OR_{1A} , $NHOH$, hidrógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido;

R_2 es OR_{2A} , $C(O)OR_{2A}$, hidrógeno, halógeno, nitrilo, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido;

R_3 es OR_{3A} , $NHC(O)R_{3A}$, $NHSO_2R_{3A}$, o hidrógeno;

15 cada uno de R_{1A} , R_{2A} y R_{3A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido.

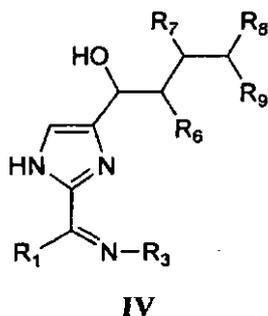
10.- El compuesto de la reivindicación 9, en donde Z es alquilo opcionalmente sustituido con uno o más restos hidroxilo, acetato o halógeno.

11.- El compuesto de la reivindicación 9, en donde R_1 es alquilo inferior opcionalmente sustituido o en donde R_1 es $NHOH$, en donde el alquilo inferior se define como un resto alquilo que tiene de 2 a 4 carbonos.

12.- El compuesto de la reivindicación 9, en donde R_2 es hidrógeno o halógeno.

13.- El compuesto de la reivindicación 9, en donde R_3 es uno de los siguientes: OR_{3A} ; $NHC(O)R_{3A}$; $NHSO_2R_{3A}$ por ejemplo en donde R_{3A} es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido o en donde R_{3A} es arilo o heterociclo opcionalmente sustituido, en donde el alquilo inferior se define como un resto alquilo que tiene de 2 a 4 carbonos.

14.- El compuesto según la reivindicación 1, de fórmula IV:



o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptable, en donde:

30 R_1 es OR_{1A} , $NHOH$, hidrógeno, o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido;

R_3 es OR_{3A} , $NHC(O)R_{3A}$, $NHSO_2R_{3A}$ o hidrógeno;

R₆ es OR_{6A}, OC(O)R_{6A}, N(R_{6B})₂, NHC(O)R_{6B}, hidrógeno o halógeno;

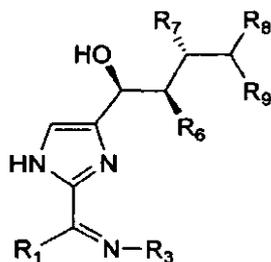
R₇ es OR_{7A}, OC(O)R_{7A}, N(R_{7B})₂, NHC(O)R_{7B}, hidrógeno o halógeno;

R₈ es OR_{8A}, OC(O)R_{8A}, N(R_{8B})₂, NHC(O)R_{8B}, hidrógeno o halógeno;

R₉ es CH₂OR_{9A}, CH₂OC(O)R_{9A}, N(R_{9B})₂, NHC(O)R_{9B}, hidrógeno o halógeno; y

- 5 cada uno de R_{1A}, R_{3A}, R_{6A}, R_{7A}, R_{8A} y R_{9A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heterociclo, alquilheterociclo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido.

15.- El compuesto de la reivindicación 14, que tiene la fórmula IV(a):



IV(a)

- 16.- El compuesto de la reivindicación 14, en donde uno o más de R₆, R₇, R₈ y R₉ es hidroxilo o halógeno, o en donde todos de R₆, R₇, R₈ y R₉ son hidroxilo o acetato.

17.- El compuesto de la reivindicación 16, en donde todos de R₆, R₇, R₈ y R₉ son hidroxilo o acetato.

18.- El compuesto de la reivindicación 15, en donde R₁ es alquilo inferior opcionalmente sustituido o en donde R₁ es NHOH, en donde el alquilo inferior se define como un resto alquilo que tiene de 2 a 4 carbonos.

- 19.- El compuesto de la reivindicación 15, en donde R₃ es uno de los siguientes: OR_{3A}; NHC(O)R_{3A}; NHSO₂R_{3A} en donde R_{3A} es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido o en donde R_{3A} es arilo o heterociclo opcionalmente sustituido, en donde el alquilo inferior se define como un resto alquilo que tiene de 2 a 4 carbonos.

20.- Un compuesto, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptable, según las reivindicaciones 1 ó 9, en donde el compuesto es:

oxima de la 1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)-etanona;

- 20 oxima de la (E)-1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)-etanona;

oxima de la (Z)-1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)-etanona;

O-metil-oxima de la 1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etanona;

O-metil-oxima de la (E)-1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etanona;

O-metil-oxima de la (Z)-1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etanona;

- 25 4-metil-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzenosulfonohidrazida;

(E)-4-metil-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzenosulfonohidrazida;

(Z)-4-metil-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzenosulfonohidrazida;

N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida;

N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida;

- 30 (E)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida;

(Z)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida;

3-cloro-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida;

4-fluoro-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida;

- (E)-4-fluoro-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1 H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida;
 (Z)-4-fluoro-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)benzohidrazida;
 6-amino-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida;
 (E)-6-amino-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida;
 5 (Z)-6-amino-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)nicotinohidrazida;
 N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)isonicotinohidrazida;
 (E)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)isonicotinohidrazida;
 (Z)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)isonicotinohidrazida;
 N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)bifenil-3-carbohidrazida;
 10 (E)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)bifenil-3-carbohidrazida;
 (Z)-N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)bifenil-3-carbohidrazida; o
 21.- Un compuesto, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto es:
 (1R,2S,3R)-1-(2-(1-hidrazonoetil)-1H-imidazol-4-il)butano-1,2,3,4-tetraol;
 N'-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)acetohidrazida;
 15 2-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)hidrazinacarboxilato de etilo;
 (E)-2-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)hidrazinacarboxilato de etilo;
 (Z)-2-(1-(4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-il)etiliden)hidrazinacarboxilato de etilo;
 N-hidroxí-4-((1R,2S,3R)-1,2,3,4-tetrahidroxibutil)-1H-imidazol-2-carboxamida.
 22.- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones
 20 precedentes y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.
 23.- Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1-21, para usar como un medicamento.
 24.- Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-21, para usar en la supresión de la respuesta
 inmunitaria en un paciente.
 25.- Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-21, para usar en el tratamiento de uno o más de los
 siguientes: artritis reumatoide, asma, dermatitis atópica, enfermedad de Behcet; enfermedad de injerto contra
 huésped, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, polinosis, psoriasis, rechazo de trasplante o uveítis.
 26.- Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-21, para fabricar un medicamento, en
 particular un medicamento para suprimir la respuesta inmunitaria en un paciente.

FIG. 1

PORCENTAJE AUMENTADO DE LINFOCITOS T MADUROS EN TIMO TRATADO

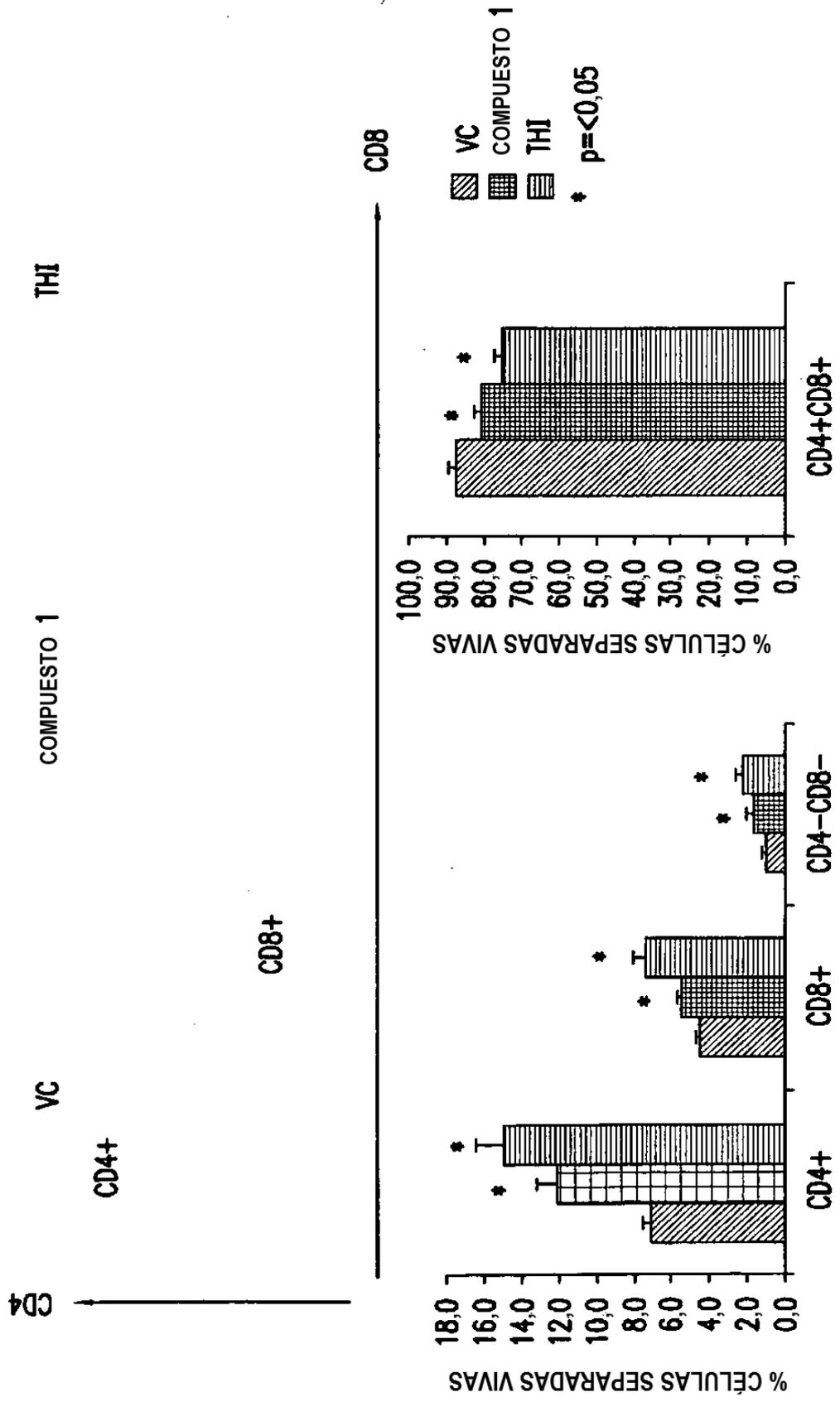


FIG. 2

PORCENTAJE AUMENTADO DE EMIGRANTES TÍMICOS RECIENTES CD4+

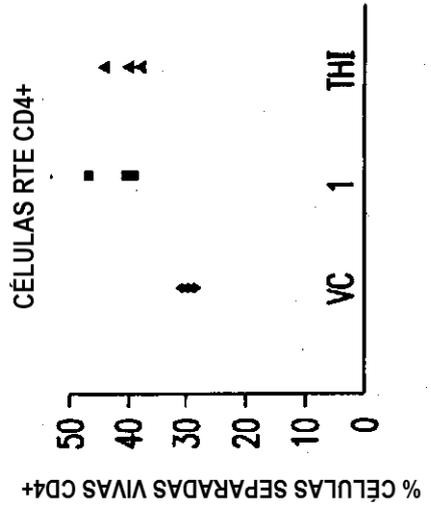
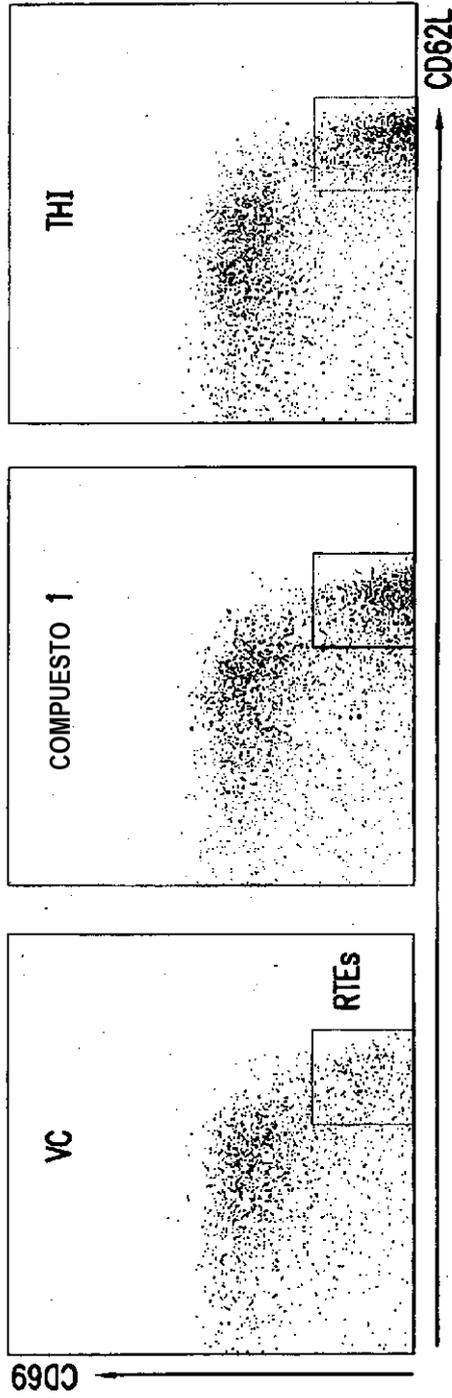


FIG. 3

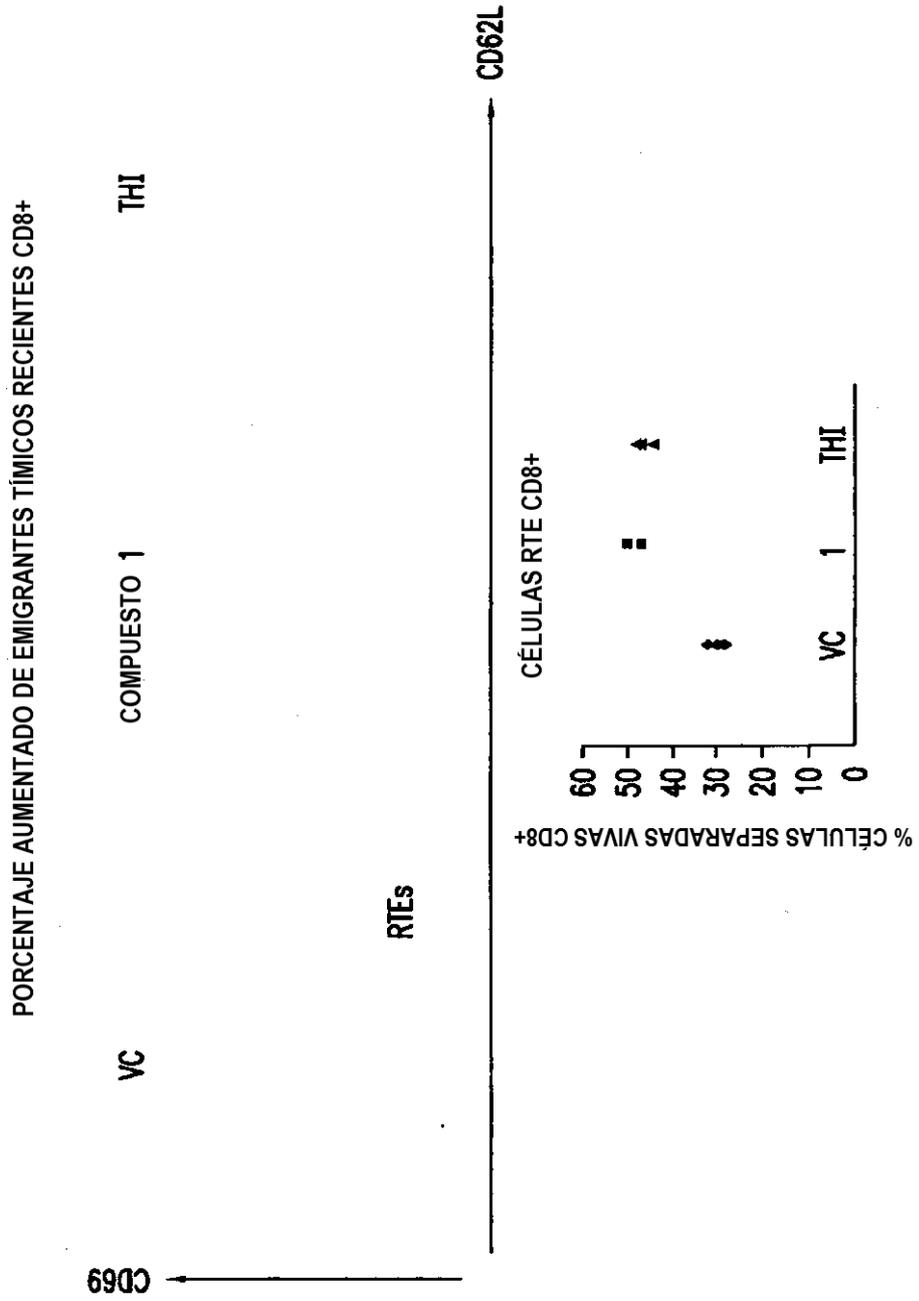
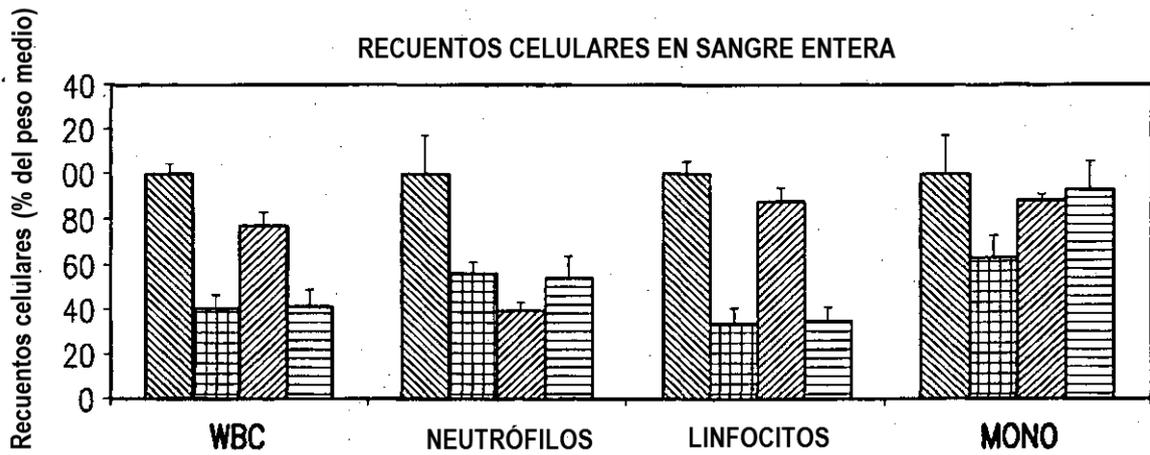
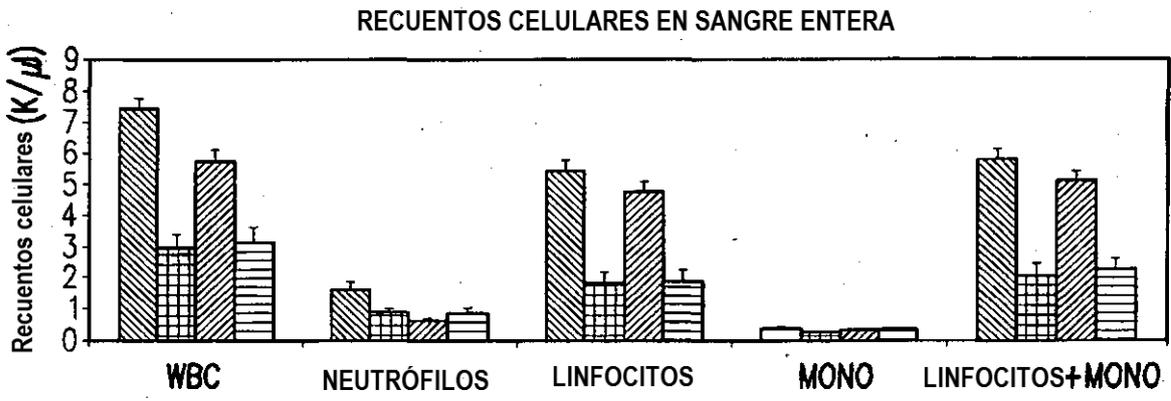
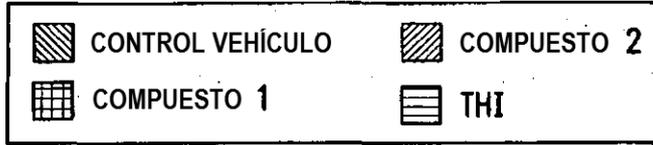


FIG. 4



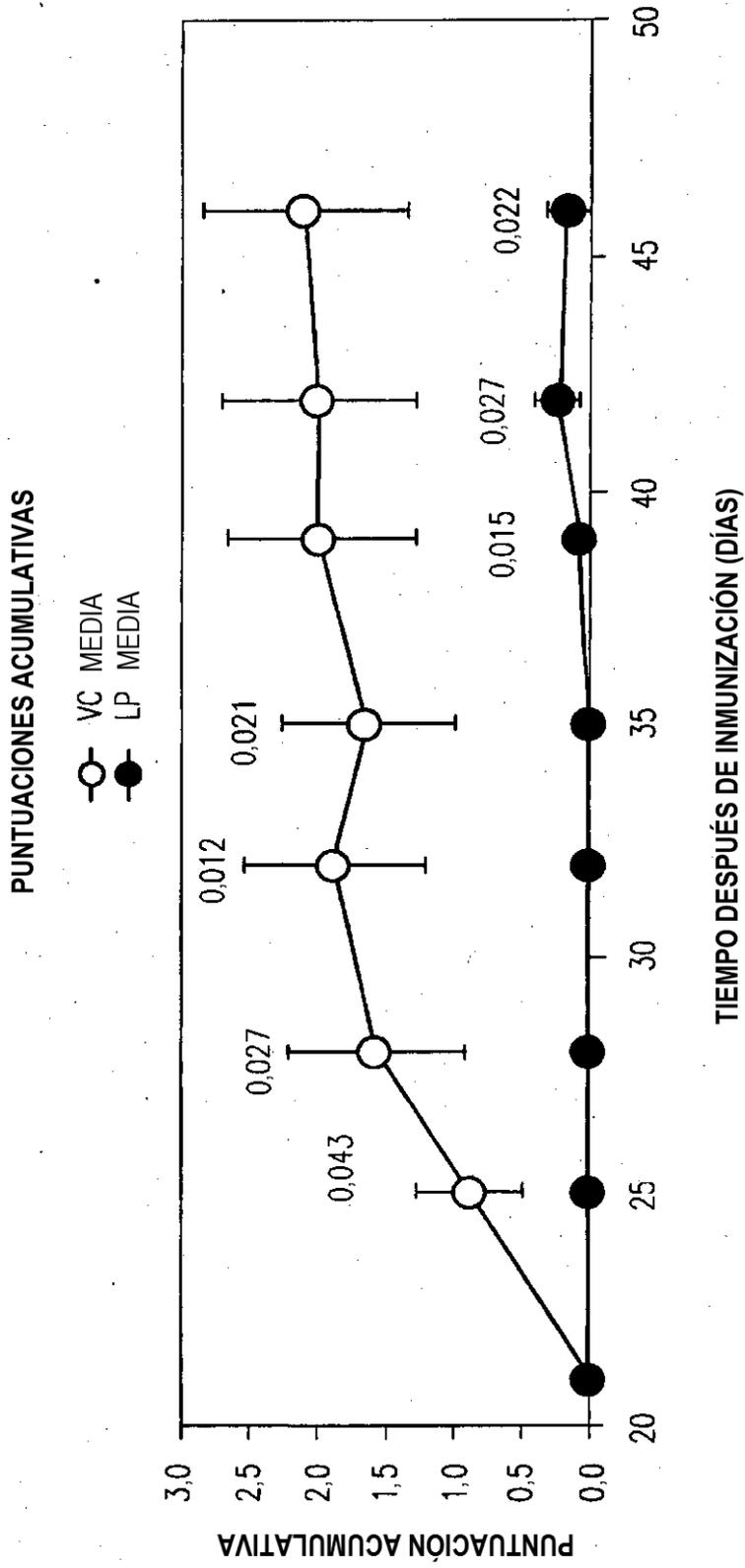
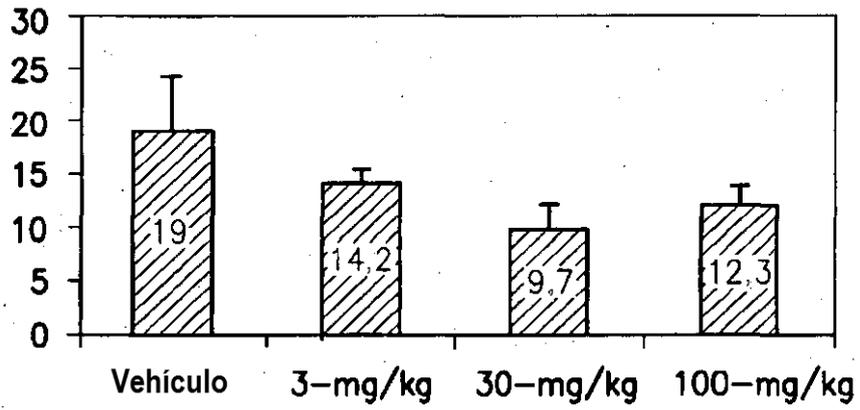


FIG. 5

FIG. 6

Media: \pm SD

LEUCOCITOS - 32 HORAS DESPUÉS DE DOSIS



LINFOCITOS - 32 HORAS DESPUÉS DE DOSIS

