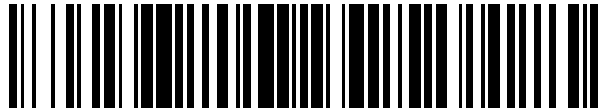


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 577 514**

51 Int. Cl.:

A61K 31/522 (2006.01)

C07D 473/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2006** **E 06813535 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.04.2016** **EP 1931352**

54 Título: **Antagonistas de TLR**

30 Prioridad:

22.08.2005 US 710337 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.07.2016

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607, US**

72 Inventor/es:

**CARSON, DENNIS A.;
TAKABAYASHI, KENJI;
COTTAM, HOWARD B.;
CHAN, MICHAEL y
WU, CHRISTINA C. N.**

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 577 514 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

Antagonistas de TLR

Antecedentes de la Invención

5 En la última década hemos aprendido mucho sobre la base molecular del reconocimiento innato de patógenos microbianos. En general se admite que muchas células somáticas expresan una serie de receptores de reconocimiento de patrones que detectan patógenos potenciales independientemente del sistema inmunitario adaptativo (véase Janeway y col., Annu. Rev. Immunol., 20:197 (2002)). Se cree que estos receptores interaccionan con componentes microbianos denominados patrones moleculares asociados a patógenos (*pathogen associated molecular patterns* - PAMP). Ejemplos de PAMP incluyen peptidoglicanos, ácidos lipoteicoicos de paredes de células gram-positivas, el azúcar manosa (que es común en carbohidratos microbianos pero raro en humanos), ADN bacteriano, ARN bicatenario viral y glucanos de paredes de células fúngicas. En general, los PAMP cumplen ciertos criterios, que incluyen (a) su expresión por microbios pero no sus huéspedes mamíferos, (b) conservación de la estructura a través de una amplia gama de patógenos y (c) capacidad de estimular la inmunidad innata. Se ha comprobado que los receptores tipo Toll (*toll-like receptor* TLR) desempeñan un papel central en la detección de PAMP y en la respuesta temprana a infecciones microbianas (véase Underhill y col., Curr. Opin. Immunol., 14:103 (2002)). En este contexto se han identificado diez TLR de mamífero y una serie de sus agonistas. Por ejemplo, el TLR7 y el TLR9 reconocen y responden a imiquimod y oligonucleótidos CpG inmunoestimulantes (ISS-ODN), respectivamente. El inmunomodulador sintético R-848 (resiquimod) activa tanto el TLR7 como el TLR8. Mientras que la estimulación de TLR inicia una cascada de señales común (que implica la proteína adaptadora MyD88, el factor de transcripción NF- κ B y citoquinas proinflamatorias y efectoras), determinados tipos de células tienden a producir determinados TLR. Por ejemplo, el TLR7 y el TLR9 se encuentran predominantemente en las caras internas de endosomas de células dendríticas (DC) y linfocitos B (en humanos; macrófagos de ratón expresan TLR7 y TLR9). Por otro lado, el TLR8 se encuentra en monocitos sanguíneos humanos (véase Homung y col., J. Immunol., 168:4531 (2002)).

10 Los interferones (INF) también intervienen en la inducción eficiente de una respuesta inmune, en especial después de una infección viral (Brassard y col., J. Leukoc. Biol., 71 :568 (2002)). Sin embargo, muchos virus producen diversas proteínas que bloquean la producción o la acción de interferón en diversos niveles. Se cree que el antagonismo de interferón forma parte de una estrategia general para eludir la inmunidad innata y también la inmunidad adaptativa (véase Levy y col., Cytokine Growth Factor Rev., 12:143 (2001)). Si bien los agonistas de TLR pueden ser suficientemente activos para algunos métodos de tratamiento, en algunos casos los antagonistas de interferón microbiano podrían mitigar los efectos coadyuvantes de TLR-L sintético.

15 La EP 1 035 123 describe compuestos heterocíclicos que tienen actividad inducida para la biosíntesis de interferón en un organismo vivo. Los compuestos heterocíclicos son útiles para medicinas tales como agentes antivirales, agentes anticancerosos y agentes terapéuticos para enfermedades inmunológicas.

En la EP 1 550 662 se dan a conocer compuestos de adenina y su uso. Los compuestos de adenina se administran vía tópica y son útiles como agentes profilácticos o terapéuticos para enfermedades virales, enfermedades alérgicas, etc.

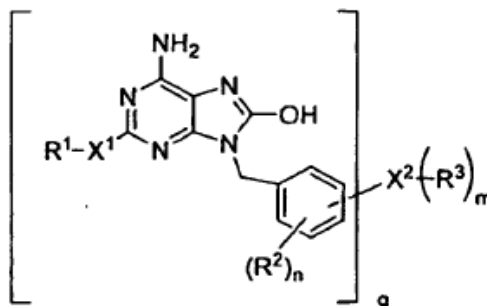
20 Por último, el documento US 2005/0004144 describe una combinación no tóxica de agentes inmunoestimulantes sintéticos útiles para activar el sistema inmunitario de un mamífero y tratar enfermedades tales como cáncer y enfermedades autoinmunes. Los agentes incluyen ligandos de TLR y análogos de ligando que inducen la producción de interferón, en combinación con inhibidores de la inosina monofosfato deshidrogenasa, que intensifica adicionalmente la inducción de la producción de interferón.

25 Por consiguiente, existe una necesidad de compuestos que aumenten la transducción de señales inducida por TLR, es decir, compuestos que dificultan la obstrucción viral o bacteriana de la producción de interferón, o que tienen la capacidad de modular el sistema inmunitario innato utilizando antagonistas de TLR.

Sumario de la Invención

30 La presente invención se refiere a conjugados (compuestos) y composiciones agonistas de TLR y a su uso terapéutico. Los compuestos de la invención son una combinación de amplio espectro, duradera y no tóxica de agentes inmunoestimulantes sintéticos, que son útiles para activar el sistema inmunitario de un mamífero, preferentemente un humano, y que pueden ayudar a dirigir el fármaco al receptor dentro de los endosomas de células diana y aumentan la transducción de señales inducida por el fármaco. Los

compuestos de la invención incluyen un farmacóforo unido de forma covalente a un grupo auxiliar. Así, se proporciona un compuesto de la invención que es un compuesto de fórmula (I):



(I)

donde

5 X^1 es -O-, -S-, o $-NR^c$ -; siendo R^c hidrógeno, alquilo(C_{1-10}) o alquilo(C_{1-10}) sustituido con cicloalquilo(C_{3-6}), o R^c y R^1 , junto con el átomo de nitrógeno, pueden formar un anillo heterocíclico o un anillo heterocíclico sustituido, siendo los sustituyentes hidroxilo, alquilo(C_{1-6}), hidroxilo-alquilo(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6})alquilo(C_{1-6}) o ciano;

10 R^1 es alquilo(C_{1-10}), alquilo(C_{1-10}) sustituido, arilo(C_{6-10}) o arilo(C_{6-10}) sustituido, heterociclilo(C_{5-9}), heterociclilo(C_{5-9}) sustituido;

cada R^2 es independientemente hidrógeno, -OH, alquilo(C_{1-6}), alquilo(C_{1-6}) sustituido, alcoxi(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6}) sustituido, -C(O)-alquilo(C_{1-6}) (alcanoilo), -C(O)-alquilo(C_{1-6}) sustituido, -C(O)-arilo(C_{6-10}) (arilo), -C(O)-arilo(C_{6-10}) sustituido, -C(O)OH (carboxilo), -C(O)O-alquilo(C_{1-6}) (alcoxicarbonilo), -C(O)O-alquilo(C_{1-6}) sustituido, - NR^aR^b , -C(O) NR^aR^b (carbamoilo), -C(O) NR^aR^b sustituido, halo, nitro, o ciano;

15 cada R^a y R^b es independientemente hidrógeno, alquilo(C_{1-6}), cicloalquilo(C_{3-8}), alcoxi(C_{1-6}), haloalquilo(C_{1-6}), cicloalquilo(C_{3-8})alquilo(C_{1-6}), alcanoilo(C_{1-6}), hidroxialquilo(C_{1-6}), arilo, arilalquilo(C_{1-6}), Het, Het-alquilo(C_{1-6}) o alcoxicarbonilo(C_{1-6});

X^2 es un enlace o un grupo de unión; y el grupo auxiliar R^3 es una proteína o un péptido;

n es 1, 2, 3, o 4; m es 1 o 2; q es 1 o 2; o

20 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los grupos auxiliares pueden incluir moléculas orgánicas compuestas por átomos de carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, azufre o fósforo. Estos grupos no son nocivos para los tejidos corporales (por ejemplo no son tóxicos y/o no provocan inflamación).

25 Además, la invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un diluyente o soporte farmacéuticamente aceptable.

30 En una realización, la invención proporciona una composición o compuesto para su uso en la prevención o el tratamiento de un estado o síntoma patológico en un mamífero, como un humano, donde la actividad de agonistas de TLR está implicada y cuya acción es deseada, que consiste en administrar a un mamífero que requiera dicha terapia una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (I) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Ejemplos no limitativos de estados o síntomas patológicos que son adecuados para el tratamiento incluyen cánceres, tratamiento de enfermedades bacterianas o virales, tratamiento de enfermedades autoinmunes y tratamiento de la enfermedad de Crohn.

35 Los compuestos de la invención también pueden emplearse para preparar vacunas contra bacterias, virus, células cancerosas, péptidos específicos de cáncer, intensificadores de anticuerpos monoclonales anticancerosos, como estimulante del SNC o para biodefensa.

La invención proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en la terapia médica (por ejemplo para utilizarlo como agente anticanceroso, para tratar enfermedades antibacterianas, para tratar enfermedades

- virales como la hepatitis C y la hepatitis B, para tratar la enfermedad de Crohn, y como agente terapéutico para tratar enfermedades inmunológicas). Además, se sugiere que los compuestos de fórmula (I) prevendrán la carcinogénesis por hepatitis C y la hepatitis B, así como el uso de un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento útil para el tratamiento de cáncer, enfermedades virales, enfermedad de Crohn y trastornos inmunológicos en un mamífero, como un humano.
- 5
- En una realización específica, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento de una infección viral en un mamífero mediante la administración de un compuesto agonista de TLR de fórmula (I). La infección viral puede estar causada por un ARN-virus, un producto del ARN-virus que actúa como agonista de TLR y/o un ADN-virus. Un ADN-virus específico para tratamiento es el virus de la hepatitis B.
- 10
- En otra realización específica, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento del cáncer mediante la administración de una cantidad efectiva de un compuesto agonista de TLR de fórmula (I). El cáncer puede ser un cáncer sensible al interferón, por ejemplo leucemia, linfoma, mieloma, melanoma o cáncer renal.
- 15
- En otra realización específica, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune mediante la administración de una cantidad efectiva de un compuesto agonista de TLR de fórmula (I) o de una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto. Enfermedades autoinmunes específicas son esclerosis múltiple, lupus, artritis reumatoide y similares.
- 20
- En otra realización específica, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Crohn mediante la administración de un compuesto agonista de TLR de fórmula (I).
- Los agonistas de TLR pueden ser un polímero agonista de TLR homofuncional y pueden consistir en un agonista de TLR-7 o un agonista de TLR-8. El agonista de TLR7 puede ser una fracción 7-tia-8-oxoguanosinil (TOG), una fracción 7-desazaguanosinil (7DG), una fracción resiquimod o una fracción imiquimod. El agonista de TLR8 puede ser una fracción resiquimod. En otro aspecto, el agonista de TLR es un polímero agonista de TLR heterofuncional. El polímero agonista de TLR heterofuncional puede incluir un agonista de TLR-7 y un agonista de TLR-8 o un agonista de TLR-9, o los tres agonistas. El polímero agonista de TLR heterofuncional puede incluir un agonista de TLR-8 y un agonista de TLR-9.
- 25
- Además, la invención proporciona procesos y productos intermedios dados a conocer aquí que son útiles para preparar compuestos de fórmula (I) o sus sales.
- 30

Breve Descripción de las Figuras

- Figura 1: ilustración gráfica del cromóforo de absorción (a ~350 nm) de un compuesto de fórmula I (conjugado OVA/IV150).
- 35
- Figura 2: ilustración gráfica de la estimulación de células dendríticas derivadas de médula ósea (*bone marrow derived dendritic cells* - BMDC).
- Figura 3: ilustra la conjugación de un agonista de TLR7, UC-1V150, con seroalbúmina de ratón (*mouse serum albumin* - MSA). El éxito de la conjugación está indicado por espectroscopía UV. La relación entre el UC-1V150 y la MSA es de aproximadamente 5:1.
- 40
- Figuras 4A y B: muestran que los conjugados de UC-1V150 y MSA activan tanto macrófagos derivados de médula ósea murina (4A) como células mononucleares de sangre periférica humana (4B). Las células se incubaron con diversas concentraciones del compuesto, de 0,5 nM a 10 µM en BMDM o de 0,1 a 10 µM en PBMC. Los sobrenadantes de cultivo se recogieron después de 24 horas y los niveles de citoquinas se analizaron mediante Luminex.
- 45
- Figuras 5A, 5B y 5C: ilustran la mayor potencia y duración del efecto de UC-1V150/MSA. A unos ratones C57BL/6 se les inyectaron (i.v.) (A) 0,1 micromoles de SM-360320, un ligando de TLR7, o (B) una cantidad equivalente de un agonista de TLR7 UC-1V150 (SM-360320 modificado con aldehído) o UC-1V150/MSA a 500 µg MSA por ratón. En los puntos temporales indicados se recogieron muestras de suero y se analizaron los niveles de citoquina mediante Luminex. MSA = seroalbúmina de ratón. El efecto del ligando de TLR7 original, SM-360320, sólo duró 2 horas, mientras que el efecto de UC-1V150/MSA se prolongó hasta al menos 6 horas.
- 50

Figura 6: ilustra los efectos de UC-1V150 conjugado con VIS inactivado (6A) o con OVA en combinación con ODN (6B). Se incubaron BMDC mieloides durante 24 horas bajo diversas condiciones con 0,1 µg/ml, tal como se indica. Los niveles de IL-12 en el sobrenadante celular se midieron mediante ELISA.

- Figuras 7A y 7B: ilustran una mayor potencia de UC-1V150/MSA. Se inyectó a unos ratones C57BL/6 vía i.v. 380 nmoles de SM-360320 o UC-1V150 o 500 µg de UC-1V150/MSA (equivalentes a 3,8 nmoles de UC-1V15) por ratón. Después de 2 horas se recogieron muestras de suero y se analizaron los niveles de citoquinas mediante Luminex. Para lograr un efecto similar se requería una concentración al menos 100 veces mayor de UC-1V150 o de SM-360320 en comparación con la de UC-1V150/MSA.

Figura 8: ilustración del espectro UV de un conjugado doble (OVA/1V150/ODN 1043).

- 10 Figura 9: ilustración de la inducción de IL-12 en BMDC utilizando conjugados de OVA/ODN/1V150.

Figura 10: ilustra la conjugación directa de partículas de VIS con el compuesto IA IV150.

Figura 11: ilustra la capacidad para preparar compuestos de la invención con partículas virales unidas a un compuesto de fórmula IA y la actividad agonista de TLR de los compuestos.

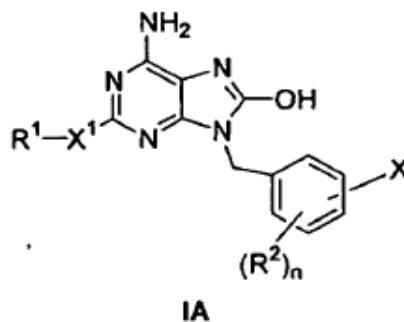
- 15 Figura 12: ilustra las áreas moleculares de especificidad por anticuerpos cultivados contra los conjugados que contienen un engarce y un ligando de TLR.

- Figuras 13A y 13B: ilustran la distinción entre las cuatro sustancias aplicadas a las vías respectivas sobre un gel en un análisis Western blot. En la Figura 13A, la membrana de gel se examinó con anticuerpo anti-ovoalbúmina (anti-OVA) y todas las vías dieron una banda positiva, indicando que la OVA se había detectado en todas las vías, como se esperaba. En la Figura 13B, la membrana de gel se examinó con el anticuerpo selectivo cultivado para la parte de ligando de TLR del conjugado y por ello solo la vía 4 era positiva, confirmando la especificidad del anticuerpo por el ligando de TLR.

Descripción Detallada

De acuerdo con la invención, el grupo auxiliar R³ es una proteína o un péptido (polímeros de aminoácidos), por ejemplo dipéptidos o tripéptidos, y similares.

- 25 Los compuestos de la invención se pueden preparar utilizando compuestos de fórmula (IA):



donde X es un grupo que puede reaccionar formando un enlace con el grupo de unión o que puede reaccionar formando un enlace con el grupo auxiliar R³. En la Patente US nº 6.329,381 se describe un grupo específico de compuestos que tienen la fórmula (IA).

- 30 A no ser que se describa de otro modo, se utilizan las siguientes definiciones: halo es flúor, cloro, bromo o yodo. Alquilo, alcoxi, alqueno, alquino, etc. indican tanto grupos de cadena lineal como grupos de cadena ramificada. Sin embargo, la referencia a un grupo individual tal como "propilo" abarca únicamente el grupo de cadena lineal, mientras que para indicar un isómero de cadena ramificada, tal como "isopropilo", se hace referencia específica al mismo. El término "arilo" indica un grupo fenilo o un grupo carbocíclico bicíclico orto-fusionado que tiene aproximadamente de nueve a diez átomos de anillo, siendo al menos un anillo aromático.
- 35 El término "heteroarilo" incluye un grupo unido a través de un carbono de un anillo aromático monocíclico que contiene cinco o seis átomos de anillo consistentes en carbono y uno a cuatro heteroátomos seleccionados en cada caso de entre el grupo consistente en oxígeno no peróxido, azufre y N(X), donde X no está o es igual a H, O, alquilo(C₁-C₄), fenilo o bencilo, así como un grupo de un heterociclo bicíclico orto-fusionado de aproximadamente ocho a diez átomos de anillo derivado del mismo, en particular uno derivado de benzo o uno derivado fusionando un dirradical propileno, trimetileno o tetrametileno con el mismo.
- 40

Los especialistas en la técnica entenderán que pueden existir compuestos de la invención con un centro quiral que se pueden aislar en formas ópticamente activas y racémicas. Algunos compuestos pueden presentar polimorfismo. Se ha de entender que la presente invención incluye cualquier forma racémica, ópticamente activa, polimórfica o estereoisomérica, o mezclas de las mismas, de un compuesto de la invención, que posean las propiedades útiles aquí descritas. En la técnica es conocido cómo preparar formas ópticamente activas (por ejemplo por resolución de la forma racémica mediante técnicas de recristalización, mediante síntesis de materiales de partida ópticamente activos, mediante síntesis quiral o por separación cromatográfica utilizando una fase estacionaria quiral) y cómo determinar la actividad agonista de nicotina utilizando las pruebas estándar aquí descritas, o utilizando otras pruebas similares bien conocidas en la técnica.

También se proporcionan como otras realizaciones de la invención procesos para preparar compuestos de fórmula I o para preparar productos intermedios útiles para la preparación de compuestos de fórmula I. Además, se proporcionan productos intermedios útiles para la preparación de compuestos de fórmula I como otras realizaciones de la invención.

En caso de que los compuestos sean suficientemente básicos o ácidos para formar sales de ácido o base, puede resultar apropiado utilizar los compuestos en forma de sales. Ejemplos de sales aceptables son sales de adición de ácidos orgánicos con ácidos que forman un anión fisiológicamente aceptable, por ejemplo tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato y α -glicerofosfato. También se pueden formar sales inorgánicas adecuadas, incluyendo sales clorhidrato, sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato.

Es posible obtener sales aceptables utilizando procedimientos estándar bien conocidos en la técnica, por ejemplo sometiendo a reacción un compuesto suficientemente básico, como una amina, con un ácido adecuado que aporte un anión fisiológicamente aceptable. También se pueden preparar sales de metales alcalinos (por ejemplo de sodio, potasio o litio) o de metales alcalinotérreos (por ejemplo de calcio) de ácidos carboxílicos.

El término "alquilo" incluye grupos alquilo(C₁₋₁₀) lineales o ramificados, por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, isopropilo, isobutilo, 1-metilpropilo, 3-metilbutilo, hexilo y similares.

El concepto "alquilo inferior" incluye grupos alquilo(C₁₋₆) lineales o ramificados, por ejemplo metilo, etilo, propilo, 1-metiletilo, butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo, 1,1-dimetiletilo, pentilo, 1-metilbutilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, 1,1-dimetilpropilo, 1,2-dimetilpropilo, 2,2-dimetilpropilo, y similares.

El término "alquileno" se refiere a una cadena hidrocarburo divalente lineal o ramificada (por ejemplo etileno: -CH₂-CH₂).

El término "cicloalquilo(C₃₋₇)" incluye grupos tales como ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares, y grupos cicloalquilo(C₃₋₇) sustituidos con alquilo, preferentemente alquilo(C₁₋₆) lineal o ramificado tal como metilo, etilo, propilo, butilo o pentilo, y grupos cicloalquilo(C₅₋₇) como ciclopentilo o ciclohexilo, y similares.

El concepto "alcoxi inferior" incluye grupos alcoxi(C₁₋₆) como metoxi, etoxi o propoxi, y similares.

El concepto "alcanoilo inferior" incluye grupos alcanóilo(C₁₋₆) como formilo, acetilo, propanoilo, butanoilo, pentanoilo o hexanoilo, y similares.

El término "aroilo(C₇₋₁₁)" incluye grupos como benzoilo o naftoilo.

El concepto "alcoxicarbonilo inferior" incluye grupos alcoxicarbonilo(C₂₋₇) como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo o propoxicarbonilo, y similares.

El concepto "grupo alquilamino inferior" significa un grupo amino sustituido con un grupo alquilo(C₁₋₆), como metilamino, etilamino, propilamino, butilamino, y similares.

El concepto "grupo di(alquilo inferior)" significa un grupo amino sustituido con el mismo o diferente grupo alquilo(C₁₋₆) (por ejemplo dimetilamino, dietilamino, etilmetilamino).

El concepto "grupo alquilcarbamoilo inferior" significa un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquilo(C₁₋₆) (por ejemplo metilcarbamoilo, etilcarbamoilo, propilcarbamoilo, butilcarbamoilo).

El concepto "grupo di(alquilcarbamoilo inferior)" significa un grupo carbamoilo sustituido con el mismo o diferente grupo alquilo(C₁₋₆) (por ejemplo dimetilcarbamoilo, dietilcarbamoilo, etilmetilcarbamoilo).

El concepto "átomo halógeno" significa un átomo halógeno, como un átomo de flúor, de cloro, de bromo o de yodo.

El término "arilo" se refiere a un grupo arilo(C₆₋₁₀) monocíclico o cíclico fusionado, como fenilo, indenilo o naftilo, y similares.

- 5 El concepto "heterocíclico" se refiere a grupos heterocíclicos saturados monocíclicos o a un grupo heterocíclico fusionado o monocíclico insaturado que contiene al menos un heteroátomo, por ejemplo 0-3 átomos de nitrógeno (-NR^d-), 0-1 átomos de oxígeno (-O-), y 0-1 átomos de azufre (-S-). Ejemplos no limitativos de grupos heterocíclicos monocíclicos saturados incluyen grupos heterocíclicos saturados de 5 o 6 miembros como tetrahidrofurano, pirrolidino, morfolino, piperidino, piperazino o pirazolidino. Ejemplos no limitativos de grupos heterocíclicos monocíclicos insaturados incluyen grupos heterocíclicos insaturados de 5 o 6 miembros como furano, pirrolo, pirazol, imidazol, tiazol, tienilo, piridilo o pirimidilo. Ejemplos no limitativos de grupos heterocíclicos fusionados insaturados incluyen grupos heterocíclicos bicíclicos insaturados como indol, isoindol, quinol, benzotiazol, cromano, benzofuran, y similares.

- 15 R^c y R¹, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar un anillo heterocíclico. Ejemplos no limitativos de anillos heterocíclicos incluyen anillos heterocíclicos saturados de 5 o 6 miembros como 1-pirrolidino, 4-morfolino, 1-piperidino, 1-piperazino o 1-pirazolidino, anillos heterocíclicos insaturados de 5 o 6 miembros como 1-imidazol, y similares.

- 20 Los grupos heterocíclicos, alquilo, arilo de R¹ pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, sustituyentes que son iguales o diferentes e incluyen alquilo inferior; cicloalquilo, hidroxilo; hidroxialquilo(C₁₋₆), como hidroximetilo, 2-hidroxietilo o 3-hidroxipropilo; alcoxi inferior; alcoxi(C₁₋₆)alquilo(C₁₋₆), como 2-metoxietilo, 2-etoxietilo o 3-metoxipropilo; amino; alquilamino; dialquilamino; ciano; nitro; acilo; carboxilo; alcoxycarbonilo inferior; halógeno; mercapto; alquiltio(C₁₋₆), como metiltio, etiltio, propiltio o butiltio; alquiltio(C₁₋₆) sustituido, como metoxietiltio, metiltioetiltio, hidroxietiltio o cloroetiltio; arilo; arilo(C₆₋₁₀) fusionado cíclico o monocíclico sustituido, como 4-hidroxifenilo, 4-metoxifenilo, 4-fluorfenilo, 4-clorofenilo o 3,4-diclorofenilo; heterocíclico insaturado de 5-6 miembros, como furano, pirrolo, pirazol, imidazol, tiazol, tienilo, piridilo o pirimidilo; y heterocíclico insaturado bicíclico, como indol, isoindol, quinol, benzotiazol, cromano, benzofuran o ftalimino.

- 30 Los grupos heterocíclicos, alquilo, arilo de R² pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, sustituyentes que son iguales o diferentes e incluyen hidroxilo; alcoxi(C₁₋₆), como metoxi, etoxi o propoxi; carboxilo; alcoxycarbonilo(C₂₋₇), como metoxycarbonilo, etoxycarbonilo o propoxycarbonilo y halógeno. De acuerdo con la invención, n es 1, 2, 3 o 4.

- 35 Los grupos heterocíclicos, alquilo, arilo de R^c pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, sustituyentes que son iguales o diferentes e incluyen cicloalquilo(C₁₋₆); hidroxilo; alcoxi(C₁₋₆); amino; ciano; arilo; arilo sustituido, como 4-hidroxifenilo, 4-metoxifenilo, 4-clorofenilo o 3,4-diclorofenilo; nitro y halógeno.

El anillo heterocíclico formado junto con R^c y R¹ y el átomo de nitrógeno al que están unidos puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, sustituyentes que son iguales o diferentes e incluyen alquilo(C₁₋₆); hidroxialquilo(C₁₋₆); alcoxi(C₁₋₆)alquilo(C₁₋₆); hidroxilo; alcoxi(C₁₋₆) y ciano.

- 40 Tal como se utiliza aquí, el término "aminoácido" comprende los residuos de aminoácidos naturales (por ejemplo, Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Glu, Gln, Gly, His, Hyl, Hyp, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, y Val) en forma D o L, así como aminoácidos no naturales (por ejemplo fosfoserina, fosfotreonina, fosfotirosina, hidroxiprolina, gamma-carboxiglutamato; ácido hipúrico, ácido octahidroindol-2-carboxílico, estatina, ácido 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxílico, penicilamina, ornitina, citrulina, -metil-alanina, para-benzoilfenilalanina, fenilglicina, propargilglicina, sarcosina y terc-butilglicina). El término también incluye aminoácidos naturales y no naturales que portan un grupo protector de amino convencional (por ejemplo acetilo o benziloxycarbonilo), así como aminoácidos naturales y no naturales protegidos en el extremo carboxi (por ejemplo como un alquil(C₁₋₆), fenil o benzil éster o amida; o como una -metilbenzil amida). Los expertos en la técnica conocen otros grupos protectores amino y carboxi adecuados (véase, por ejemplo, T.W. Greene, *Protecting Groups In Organic Synthesis*; Wiley: Nueva York, 1981, y referencias citadas en dicho documento). Por ejemplo, un aminoácido puede estar unido a la parte restante de un compuesto de fórmula I a través del extremo carboxi, el extremo amino, o por cualquier otro punto de unión conveniente, por ejemplo a través del azufre de cisteína.

El concepto "receptor tipo Toll" (*toll-like receptor* TLR) se refiere a un miembro de una familia de receptores que se unen a patrones moleculares asociados a patógenos (*pathogen associated molecular patterns* -

PAMP) y facilitan una respuesta inmune en un mamífero. Se conocen diez TLR de mamífero, por ejemplo TLR1-10.

- 5 El concepto "agonista de receptor tipo Toll" (agonista de TLR) se refiere a una molécula que se une a un TLR y antagoniza el receptor. Los agonistas de TLR sintéticos son compuestos químicos que están diseñados para que se unan a un TLR y activen el receptor. Ejemplos de agonistas de TLR nuevos aquí proporcionados incluyen "agonista de TLR-7", "agonista de TLR-8" y "agonista de TLR-9".

Un valor específico de X^1 es un átomo de azufre, un átomo de oxígeno o $-NR^c$.

Otro valor específico de X^1 es un átomo de azufre.

Otro valor específico de X^1 es un átomo de oxígeno.

- 10 Otro valor específico de X^1 es $-NR^c$.

Otro valor específico de X^1 es $-NH$.

Un valor específico de R^c es hidrógeno, alquilo(C_{1-4}) o alquilo(C_{1-4}) sustituido.

En un valor específico de R^1 y R^c juntos, éstos forman un anillo heterocíclico o un anillo heterocíclico sustituido.

- 15 Otro valor específico de R^1 y R^c juntos es un anillo morfolino, piperidino, pirrolidino o piperazino, sustituido o no sustituido.

Un valor específico de R^1 es hidrógeno, alquilo(C_{1-4}) o alquilo(C_{1-4}) sustituido.

- 20 Otro valor específico de R^1 es 2-hidroxi-etilo, 3-hidroxi-propilo, 4-hidroxi-butilo, 2-amino-etilo, 3-amino-propilo, 4-amino-butilo, metoximetilo, 2-metoxi-etilo, 3-metoxi-propilo, etoximetilo, 2-etoxi-etilo, metiltimetilo, 2-metil-etilo, 3-metil-propilo, 2-fluoro-etilo, 3-fluoro-propilo, 2,2,2-trifluoro-etilo, cianometilo, 2-ciano-etilo, 3-ciano-propilo, metoxicarbonimetilo, 2-metoxicarboni-etilo, 3-metoxicarboni-propilo, bencilo, fenetilo, 4-piridilmetilo, ciclohexilmetilo, 2-tienilmetilo, 4-metoxifenilmetilo, 4-hidroxifenilmetilo, 4-fluorofenilmetilo o 4-clorofenilmetilo.

Otro valor específico de R^1 es hidrógeno, CH_3 -, CH_3-CH_2 -, $CH_3CH_2CH_2$ -, hidroxi-alquilen(C_{1-4}) o alcoxi(C_{1-4})alquilen(C_{1-4}).

- 25 Otro valor específico de R^1 es hidrógeno, CH_3 -, CH_3-CH_2 -, $CH_3-O-CH_2CH_2$ - o $CH_3-CH_2-O-CH_2CH_2$ -.

Un valor específico de R^2 es hidrógeno, halógeno o alquilo(C_{1-4}).

Otro valor específico de R^2 es hidrógeno, cloro, bromo, CH_3 - o CH_3-CH_2 -.

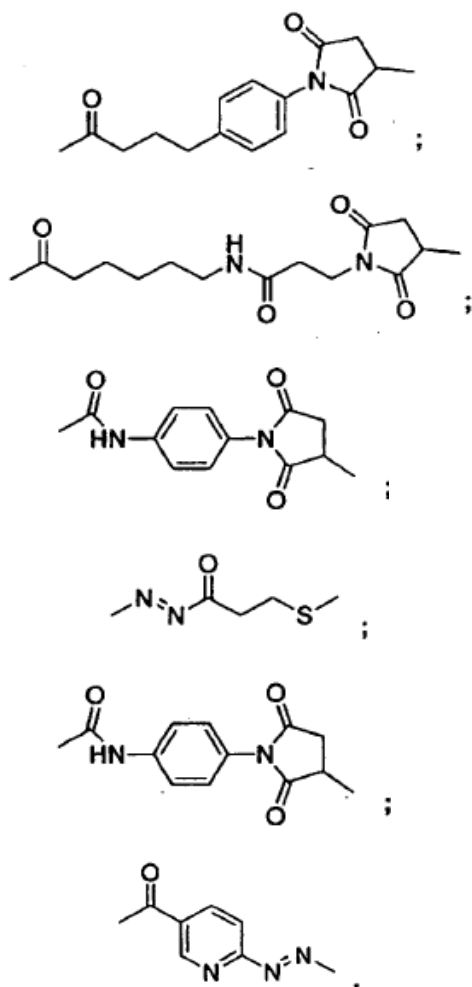
- 30 Sustituyentes específicos para la sustitución de los grupos alquilo, arilo o heterocíclicos son hidroxi, alquilo(C_{1-6}), hidroxi-alquilen(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6})alquilen(C_{1-6}), cicloalquilo(C_{3-6}), amino, ciano, halógeno o arilo.

Un valor específico de X_2 es un enlace o una cadena que tiene hasta aproximadamente 24 átomos; seleccionándose los átomos entre el grupo consistente en carbono, nitrógeno, azufre, oxígeno no peróxido y fósforo.

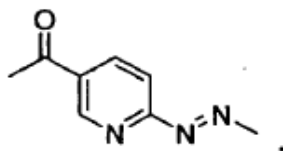
- 35 Otro valor específico de X^2 es un enlace o una cadena que tiene de aproximadamente 4 a aproximadamente 12 átomos.

Otro valor específico de X^2 es un enlace o una cadena que tiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 9 átomos.

Otro valor específico de X_2 es



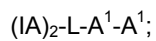
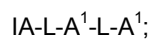
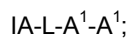
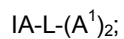
Otro valor específico de X² es



- 5 De acuerdo con la presente invención, el grupo auxiliar R³ es una proteína o un péptido. Un péptido específico tiene de 2 a aproximadamente 20 residuos de aminoácido.

Otro péptido específico tiene de 10 a aproximadamente 20 residuos de aminoácido.

Compuestos específicos de la invención tienen la fórmula general



10

(IA)₂-L-A¹; o

(IA)₂-L-(A¹)₂;

siendo IA tal como se da a conocer aquí; L no está presente o es un grupo de unión; y cada grupo A¹ representa independientemente un grupo auxiliar R³ de acuerdo con la invención.

- 5 En una realización, la infección viral está causada por un coronavirus que provoca Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SRAG), un virus de la hepatitis B o un virus de la hepatitis C.

En otra realización, la infección viral está causada por un coronavirus que provoca Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SRAG), un virus de la hepatitis B, o un virus de la hepatitis C.

- 10 Cánceres específicos que pueden ser tratados incluyen melanoma, cáncer superficial de vejiga, queratosis actínicas, neoplasia intraepitelial y carcinoma de piel de células basales, escamoso, y similares. Además, la invención incluye el uso para el tratamiento de una afección precancerosa, por ejemplo queratosis actínicas o neoplasia intraepitelial, poliposis familiar (pólipos), displasia cervical, cánceres cervicales, cáncer superficial de vejiga, y cualquier otro cáncer asociado con infección (por ejemplo linfoma sarcoma de Karposi, o leucemia); y similares.

- 15 Ejemplos no limitativos de estados o síntomas patológicos que pueden ser tratados incluyen enfermedades virales, cáncer, enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal, cerebro, piel, articulaciones y otros tejidos.

- 20 Se considera que los grupos auxiliares R³ de acuerdo con la invención intensifican la actividad de fármaco del farmacóforo (compuestos de fórmula (I)) (a) ayudando a dirigir el farmacóforo hacia el receptor dentro de los endosomas de células diana; (b) intensificando la transducción de señales inducida por el farmacóforo, mediante reticulación del receptor; y/o (c) el farmacóforo puede intensificar la respuesta al grupo auxiliar (por ejemplo, respuesta inmune). El grupo auxiliar R³ de acuerdo con la invención debería formar generalmente enlaces estables con el farmacóforo y no actuar como profármaco.

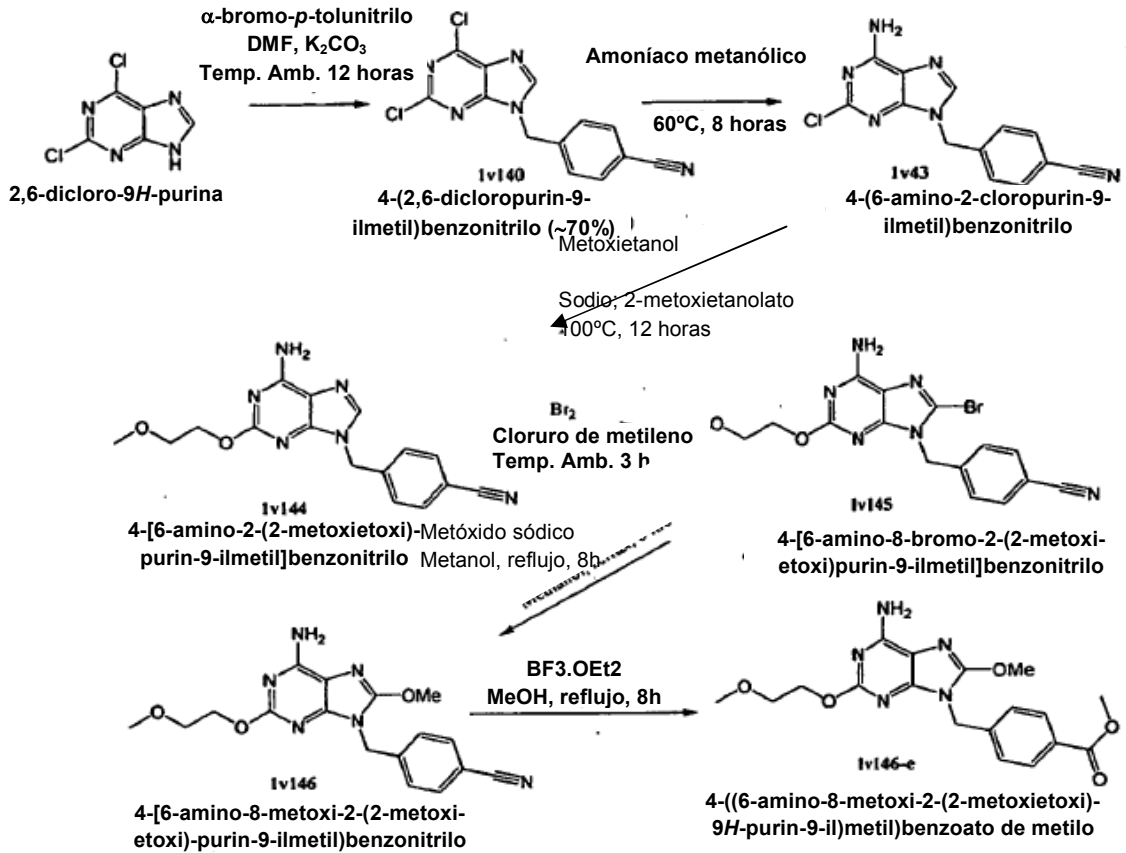
- 25 La invención incluye composiciones de un compuesto de fórmula (I), opcionalmente en combinación con un inhibidor de la inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), un enantiómero de un compuesto de este tipo, un profármaco de dicho compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de este compuesto. Tal como se utiliza aquí, un "inhibidor de la IMPDH" se refiere a un inhibidor de la enzima inosina monofosfato deshidrogenasa. En la actualidad se utilizan clínicamente tres inhibidores de la IMPDH: ribavirina, mizoribina y micofenolato mofetilo. La ribavirina y la mizoribina son profármacos que se fosforilan intracelularmente para producir análogos de IMP (Goldstein y col., Cuff Med Chem, 6:519-536 (1999)). La viramidina es un profármaco de la ribavirina. El micofenolato mofetilo es inmunosupresor y tiene propiedades irritativas gastrointestinales atribuibles a su recirculación enterohepática (Papageorgiou C., Mini Rev Med Chem., 1:71-77 (2001)). La mizoribina aglicona, un profármaco, se utiliza como un inhibidor de la IMPDH. También se conocen otros ejemplos no limitativos de inhibidores de la IMPDH, incluyendo profármacos de mizoribina y mizoribina aglicona, que se dan a conocer en la solicitud de Patente U.S. publicada nº 20050004144.

- 30 En casos de que los compuestos sean suficientemente básicos o ácidos para formar sales de ácido o base, puede resultar apropiado administrar los compuestos en forma de sales. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácidos orgánicos formadas con ácidos que forman un anión fisiológicamente aceptable, por ejemplo tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato y α -glicerofosfato. También se pueden formar sales inorgánicas adecuadas, incluyendo sales clorhidrato, sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato.

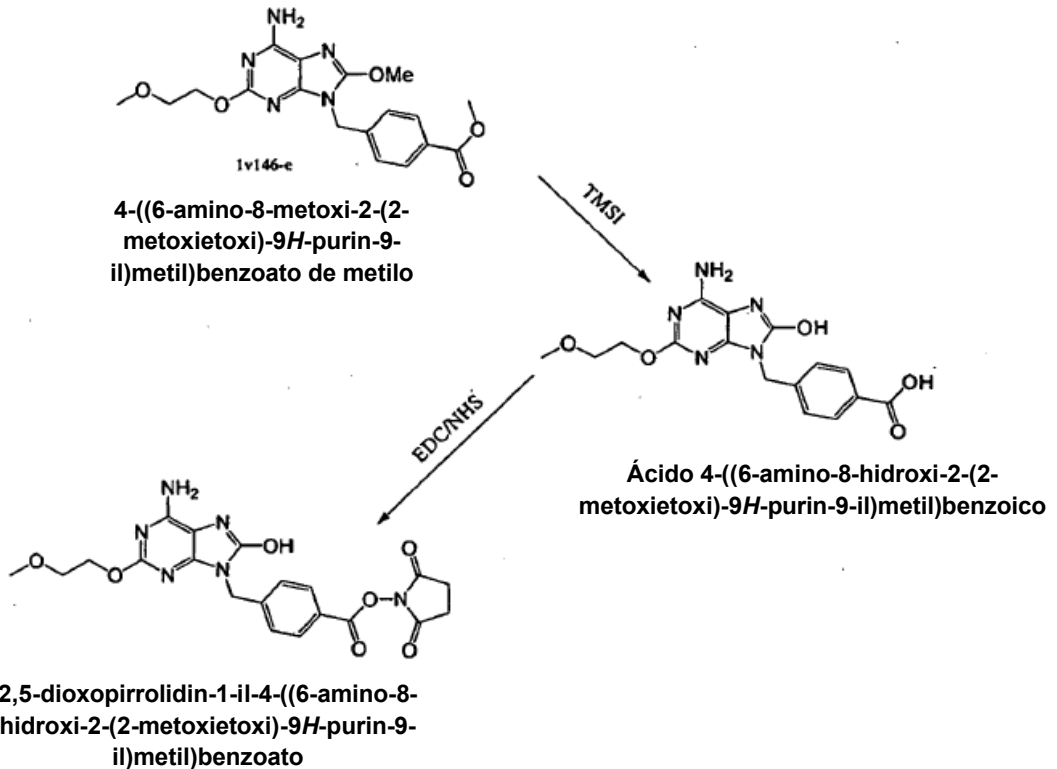
- 35 Es posible obtener sales aceptables utilizando procedimientos estándar bien conocidos en la técnica, por ejemplo sometiendo a reacción un compuesto suficientemente básico, como una amina, con un ácido adecuado que aporte un anión fisiológicamente aceptable. También se pueden preparar sales de metales alcalinos (por ejemplo de sodio, potasio o litio) o de metales alcalinotérreos (por ejemplo de calcio) de ácidos carboxílicos.

- 45 Los compuestos (conjugados) de la invención se pueden preparar utilizando métodos de síntesis estándar conocidos en técnica. A continuación se ilustra una síntesis de éster general:

Síntesis General

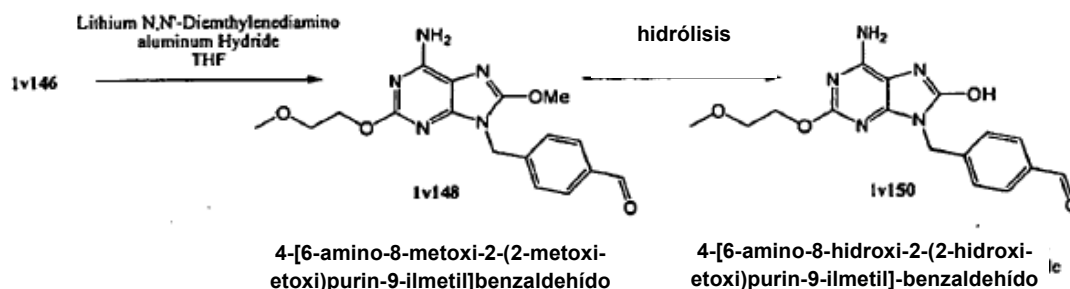


Síntesis de éster NHS



Síntesis de aldehído





Aquí se incluyen ejemplos adicionales para preparar compuestos específicos.

5 Los compuestos de fórmula I se pueden formular como composiciones farmacéuticas y administrar a un huésped mamífero, tal como un paciente humano, en diversas formas adaptadas a la vía de administración elegida, es decir, vía oral o parenteral, intravenosa, intramuscular, tópica o subcutánea.

10 Así, los presentes compuestos pueden ser administrados sistémicamente, por ejemplo vía oral, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un diluyente inerte o un soporte comestible asimilable. Pueden estar encerrados en cápsulas de gelatina dura o blanda, pueden estar comprimidos en tabletas o se pueden incorporar directamente en el alimento de la dieta del paciente. Para la administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede combinar con uno o más excipientes y utilizar en forma de tabletas ingeribles, tabletas bucales, pastillas, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Dichas composiciones y preparaciones deberían contener al menos un 0,1% de compuesto activo. Evidentemente, el porcentaje de las composiciones y preparaciones puede variar y puede oscilar convenientemente entre aproximadamente el 2 y aproximadamente el 60% del peso de una forma de dosificación unitaria dada. La cantidad de compuesto activo en dichas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá un nivel de dosis eficaz.

20 Las tabletas, pastillas, píldoras, cápsulas y similares pueden contener también los siguientes ingredientes: aglutinantes como goma tragacanto, acacia, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio; y un agente edulcorante tal como sacarosa, fructosa, lactosa o aspartamo, o se puede añadir un agente aromatizante tal como menta, aceite de gaulteria, o aromatizante de cereza. Cuando la forma de dosificación unitaria consiste en una cápsula, además de los materiales del tipo arriba indicado también puede contener un vehículo líquido, como un aceite vegetal o un polietilenglicol. Otros materiales diversos pueden estar presentes como revestimientos o para modificar de otro modo la forma física de la forma de dosificación unitaria sólida. Por ejemplo, las tabletas, píldoras o cápsulas pueden estar revestidas con gelatina, cera, goma laca o azúcar y similares. Un jarabe o elixir puede contener el compuesto activo, sacarosa o fructosa como agente edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y aromatizante tal como aromatizante de cereza o naranja. Evidentemente, cualquier material utilizado en la preparación de cualquier forma de dosificación unitaria debe ser farmacéuticamente aceptable y esencialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, el compuesto activo se puede incorporar en preparaciones y dispositivos de liberación controlada.

35 El compuesto activo también puede ser administrado vía intravenosa o intraperitoneal mediante infusión o inyección. Las soluciones del compuesto activo o sus sales se pueden preparar en agua, opcionalmente mezclada con un agente tensioactivo no tóxico. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos, triacetina y mezclas de las mismas y en aceites. Bajo condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el desarrollo de microorganismos.

40 Las formas de dosificación farmacéutica adecuadas para inyección o infusión pueden incluir soluciones acuosas estériles o dispersiones de polvos estériles que comprenden el ingrediente activo y que están adaptadas para la preparación magistral de soluciones o dispersiones estériles inyectables o administrables por infusión, opcionalmente encapsuladas en liposomas. En todos los casos, la forma de dosificación final debe ser estéril, fluida y estable bajo las condiciones de producción y almacenamiento. El soporte o vehículo líquido puede ser un disolvente o un medio de dispersión líquido, incluyendo, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles líquidos, y similares), aceites vegetales, glicerilésteres no tóxicos y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante la formación de liposomas, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, o empleando agentes tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede

conseguirse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares, tampones o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede lograr empleando en las composiciones agentes de retraso de absorción, por ejemplo monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes arriba enumerados, según sea necesario, seguido de esterilización por filtro. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferentes son las técnicas de secado en vacío y liofilización, que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado presente en las soluciones previamente filtradas de forma estéril.

Para la administración tópica, los presentes compuestos se pueden aplicar en forma pura, es decir, cuando están en estado líquido. Sin embargo, en general será deseable aplicarlos a la piel en forma de composiciones o formulaciones en combinación con un soporte dermatológicamente aceptable, que puede ser un sólido o un líquido.

Los soportes sólidos útiles incluyen sólidos finamente divididos, como talco, arcilla, celulosa microcristalina, sílice, alúmina y similares. Los soportes líquidos útiles incluyen agua, alcoholes o glicoles o mezclas de agua-alcohol/glicol, en los que los presentes compuestos se pueden disolver o dispersar en niveles efectivos, opcionalmente con ayuda de agentes tensioactivos no tóxicos. También se pueden añadir adyuvantes tales como fragancias y agentes antimicrobianos adicionales con el fin de optimizar las propiedades para un uso dado. Las composiciones líquidas resultantes se pueden aplicar desde tampones absorbentes, utilizar para impregnar vendajes y otros apósitos, o pulverizar sobre el área afectada utilizando pulverizadores de aerosol o de tipo bomba.

También es posible utilizar espesantes tales como polímeros sintéticos, ácidos grasos, sales y ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos, celulosas modificadas o materiales minerales modificados, con soportes líquidos para formar pastas untables, geles, ungüentos, jabones y similares, para una aplicación directa sobre la piel del usuario.

En la técnica se conocen ejemplos de composiciones dermatológicas útiles que pueden ser utilizadas para administrar los compuestos de fórmula I sobre la piel; véase, por ejemplo, Jacquet y col. (Pat. U.S. n° 4,608,392), Geria (Pat. US n° 4.992.478), Smith y col. (Pat. US n° 4.559.157) y Wortzman (Pat. US n° 4.820.508).

Las dosis útiles de los compuestos de la invención se pueden determinar comparando su actividad *in vitro* y actividad *in vivo* en modelos animales. Los métodos para la extrapolación de las dosis efectivas en ratones y otros animales a humanos son conocidos en la técnica; véase, por ejemplo, Pat. US n° 4.938.949.

En general, la concentración del o de los compuestos de fórmula I en una composición líquida, como una loción, oscilará entre aproximadamente el 0,1 y el 25% en peso, preferentemente entre aproximadamente el 0,5 y el 10% en peso. La concentración en una composición semisólida o sólida tal como un gel o un polvo oscilará entre aproximadamente el 0,1 y el 5% en peso, preferentemente entre aproximadamente el 0,5 y el 2,5% en peso.

La cantidad del compuesto, o de una sal o derivado activo del mismo, necesaria para el uso en un tratamiento variará no solo en función de la sal particular seleccionada, sino también de la vía de administración, la naturaleza de la afección tratada y la edad y el estado del paciente, y finalmente estará a discreción del médico o clínico que ordena el tratamiento.

No obstante, una dosis adecuada oscilará en general entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 100 mg/kg, por ejemplo entre aproximadamente 10 y aproximadamente 75 mg/kg de peso corporal al día, por ejemplo entre 3 y aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal del receptor al día, preferentemente entre 6 y 90 mg/kg/día, de forma especialmente preferente entre 15 y 60 mg/kg/día.

El compuesto se administra convenientemente en forma de dosis unitarias que contienen, por ejemplo, de 5 a 1.000 mg, convenientemente de 10 a 750 mg, de forma especialmente conveniente de 50 a 500 mg del ingrediente activo por forma de dosis unitaria.

Idealmente, el ingrediente activo se debería administrar para alcanzar concentraciones máximas del compuesto activo en plasma entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 75 μM , preferentemente entre aproximadamente 1 y 50 μM , de forma especialmente preferente entre aproximadamente 2 y aproximadamente 30 μM . Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante la inyección intravenosa de una

5 solución del 0,05 al 5% del ingrediente activo, opcionalmente en solución salina, o la administración oral en forma de un bolo que contiene aproximadamente 1-100 mg del ingrediente activo. Los niveles deseables en sangre se pueden mantener mediante infusión continua para proporcionar aproximadamente 0,01-5,0 mg/kg/hora o mediante infusiones intermitentes que contienen aproximadamente 0,4-15 mg/kg del ingrediente o los ingredientes activos.

10 La dosis deseada se puede presentar convenientemente en una única dosis o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo dos, tres, cuatro o más subdosis al día. La propia subdosis puede estar dividida, por ejemplo en una serie de administraciones discretas separadas por intervalos libres; como múltiples inhalaciones desde un insuflador o mediante la aplicación de múltiples gotas en el ojo.

La capacidad de un compuesto de la invención para actuar como agonista de TLR se puede determinar utilizando modelos farmacológicos bien conocidos en la técnica, incluyendo los procedimientos dados a conocer por Lee y col.; PNAS, 100 p6646-6651, 2003.

15 Aquí se proporcionan procesos para preparar compuestos de fórmula (I) como realizaciones adicionales de la invención, que se ilustran mediante los siguientes procedimientos, donde los significados de los grupos genéricos son tal como se indican más arriba a no ser que se señale algo distinto.

Ejemplos

20 **Química general.** Los reactivos y disolventes se adquirieron en Aldrich, Milwaukee, WI. Los puntos de fusión no corregidos se determinaron en un aparato de punto de fusión de capilares Laboratory Device Mel-Temp II. Los espectros de resonancia magnética nuclear se registraron en un espectrofotómetro Varian Unity 500 NMR a 499,8 MHz o en un espectrofotómetro Varian Mercury NMR a 400,06 MHz. Los desplazamientos químicos se registraron en ppm en la escala de la referencia indicada. El Department of Chemistry UCSD, San Diego, CA llevó a cabo espectros de masas de bucle de iones positivos y negativos. NuMega Resonance Labs, San Diego, CA llevó a cabo análisis elementales. La cromatografía en columna se llevó a cabo en E Merck gel de sílice (malla 230-400) con el sistema disolvente indicado. La cromatografía en capa fina (*thin layer chromatography* - TLC) se llevó a cabo en placas 60 F-254 de gel de sílice (EM Reagents).

Ejemplo 1 - Preparación de 4-(2,6-dicloropurin-9-ilmetil)benzonitrilo

30 Se disuelve 2,6-dicloro-9H-purina (16 mmol) en DMF (50 ml) y se añade carbonato de potasio (50 mmol). Luego se añade α -bromo-*p*-tolunitrilo (22 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de filtración para eliminar sales inorgánicas insolubles, el filtrado se vierte en agua (1.500 ml) y se extrae con acetato de etilo (2 x 400 ml), se seca sobre sulfato de magnesio y se evapora para obtener un residuo, que se somete a cromatografía flash en gel de sílice utilizando acetato de etilo/acetona/hexanos 1:2:10. Rendimiento 3,33 g (69%). UV, NMR y MS son coherentes con la asignación de estructura.

Ejemplo 2 - Preparación de 4-(6-amino-2-cloropurin-9-ilmetil)benzonitrilo

35 El producto del ejemplo 1 (1,9 g) se dispone en un recipiente de reacción de acero y se añade amoníaco metanólico (80 ml, 7N). El recipiente sellado se calienta a 60°C durante 12 horas y se enfría con hielo, y el producto sólido se filtra. Rendimiento 1,09 g. La UV, la NMR y la MS son coherentes con la estructura asignada.

Ejemplo 3 - Preparación de 4-[6-amino-2-(2-metoxietoxi)purin-9-ilmetil]-benzonitrilo

40 Se prepara una sal sódica de 2-metoxietanol disolviendo metal de sodio (81 mg) en 2-metoxietanol (30 ml) con calor. A esta solución se añade el producto del ejemplo 2 (1,0 g) disuelto en metoxietanol (300 ml, con calor). La mezcla de reacción se calienta durante 8 horas con una temperatura del baño de 115°C, se concentra en vacío hasta cerca de la sequedad y el residuo se divide entre acetato de etilo y agua. Una cromatografía flash en gel de sílice utilizando 5% metanol en diclorometano da como resultado 763 mg de producto. La NMR es coherente con la asignación de estructura.

Ejemplo 4 - Preparación de 4-[6-amino-8-bromo-2-(2-metoxietoxi)purin-9-ilmetil]benzonitrilo

50 El producto del ejemplo 3 (700 mg) se disuelve en diclorometano (400 ml) y se añade bromo (7 ml) gota a gota. La mezcla se agita a lo largo de la noche a temperatura ambiente y se extrae con una disolución acuosa de tiosulfato de sodio (2 l de 0,1M) y después con bicarbonato de sodio acuoso (500 ml, saturado). El residuo de la capa orgánica se cromatografía en gel de sílice utilizando 3% metanol en diclorometano para obtener 460 mg de producto de bromo. La NMR, la UV y la MS son coherentes con la asignación de estructura.

Ejemplo 5 - Preparación de 4-[6-amino-8-metoxi-2-(2-metoxietoxi)purin-9-ilmetil]benzonitrilo

Se prepara metóxido de sodio mediante reacción de metal de sodio (81 mg) en metanol seco (30 ml). El producto del ejemplo 4 (700 mg) se disuelve en dimetoxietano seco y la temperatura se aumenta a 100°C. Después de una noche de reacción, la mezcla se concentra en vacío y el residuo se cromatografía en sílice utilizando 5% metanol en diclorometano. Rendimiento 120 mg. La NMR es coherente con la asignación de estructura.

Ejemplo 6 - Preparación de hidruro de litio N,N'-(dimetiletilenodiamino)-aluminio

Este agente reductor utilizado para convertir el nitrilo en la función aldehído se prepara esencialmente tal como se describe en *Bull. Korean Chem. Soc.* (2002), 23(12), 1697-1968. Se prepara una solución 0,5M en THF seco.

Ejemplo 7 - Preparación de 4-[6-amino-8-metoxi-2-(2-metoxietoxi)purin-9-ilmetil]benzaldehído

El producto del ejemplo 5 (100 mg) se disuelve en THF seco (3 ml) y se enfría a 0°C bajo argón. El reactivo preparado en el ejemplo 6 (0,72 ml) se añade al matraz de reacción y la mezcla se agita a 0-5°C durante 1 hora y después se extingue mediante adición de HCl 3M. Luego se extrae la mezcla con acetato de etilo seguido por diclorometano y se concentra en vacío para obtener 85 mg. La NMR es coherente con la asignación de estructura.

Ejemplo 8 - Preparación de 4-[6-amino-8-hidroxi-2-(2-metoxietoxi)purin-9-ilmetil]benzaldehído (1V150)

El producto del ejemplo 7 (800 mg) se combina con yoduro de sodio (504 mg) y acetonitrilo (40 ml) y después se añade lentamente clorotrimetilsilano (0,5 ml). La mezcla se calienta a 70°C durante 3,5 horas, se enfría y se filtra. El producto sólido se lava con agua y después con éter para obtener 406 mg. La NMR, la UV y la MS son coherentes con la asignación de estructura. Este material es adecuado para reacciones de conjugación entre engarces y grupos auxiliares.

Ejemplo 9 - Preparación de 4-[6-amino-8-metoxi-2-(2-metoxietoxi)purin-9-ilmetil]benzoato de metilo
(Procedimiento según la descripción de Jayachitra, y col., *Synth. Comm.*, (2003) 33(19), 34612466)

El producto del ejemplo 5 (1 mmol) se disuelve en metanol seco (5 ml) y después se añade a la solución BF₃ eterato (4 mmol) recién destilado. La mezcla resultante se somete a reflujo bajo argón durante 20 horas. El disolvente se retira en vacío, el residuo se recoge en diclorometano (10 ml) y se extrae con bicarbonato de sodio acuoso diluido (2 x 10 ml), la capa orgánica se seca sobre sulfato de magnesio. Después de evaporación, el producto se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando 5% metanol en diclorometano para obtener 0,8 mmol.

Ejemplo 10 - Preparación de ácido 4-[6-amino-8-hidroxi-2-(2-metoxietoxi)-purin-9-ilmetil]benzoico

El producto del ejemplo 9 (100 mg) se combina con yoduro de sodio (63 mg) y acetonitrilo (10 ml) y después se añade lentamente clorotrimetilsilano (120 ml). La mezcla se calienta a 70°C durante 6 horas, se enfría y se filtra. El producto sólido se lava con agua y después con éter para obtener 51 mg.

Ejemplo 11 - Preparación de 4-[6-amino-8-hidroxi-2-(2-metoxietoxi)purin-9-ilmetil]benzoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo

El producto del ejemplo 10 (2 mmol) se disuelve en diclorometano o dioxano (10 ml) y se añade EDC (2 mmol). A esta solución se añade N-hidroxisuccinimida (2 mmol) y la mezcla resultante se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se lleva a sequedad en vacío y el producto crudo se purifica mediante cromatografía en gel de sílice para obtener 2 mmol de producto, que es adecuado para reacciones de conjugación en las que intervienen aminas primarias.

Ejemplo 12 - Conjugación de IV150 con seroalbúmina de ratón (MSA)

Modificación de MSA con SANH: 200 µl de MSA (25 mg/ml) se mezclaron con 100 µl de tampón de conjugación (NaPi 1M, pH = 7,2) y 690 µl de PBS. A la solución de proteína se añadieron 844 µg de SANH en 10 µl de DFM (exceso molar en un factor 40 con respecto a la MSA) (la concentración final de MSA en la mezcla de reacción es de 5 mg/ml). Después de mezclar suavemente, la reacción continuó a temperatura ambiente durante 2 horas. Para eliminar el exceso de SANH, la mezcla de reacción se cargó en una columna NAP-10 equilibrada con PBS y la MSA modificada se eluyó con 1,5 ml de PBS.

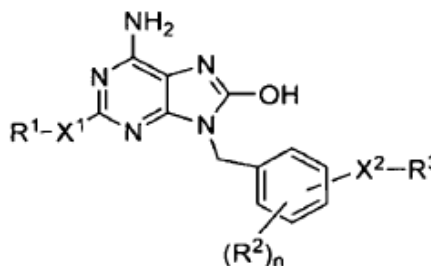
Unión de IV150 a MSA modificada con SANH: 460 µg de IV150 disuelto en 10 µl de DMF se añadieron a MSA modificada con SANH y la mezcla de reacción se incubó a TA a lo largo de la noche. Para eliminar el

ES 2 577 514 T3

exceso de IV150, la mezcla de reacción se concentró en primer lugar a 1 ml utilizando una columna micro-spin (Millipore: BIOMAX 5K) y se cargó en una columna NAP-10 tal como se menciona más arriba.

Reivindicaciones

1. Compuesto de fórmula (IA):

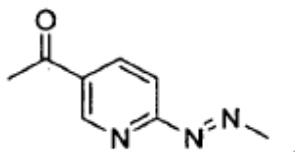


(IA)

donde

- 5 X^1 es $-O-$, $-S-$, o $-NR^c-$; siendo R^c hidrógeno, alquilo(C_{1-10}) o alquilo(C_{1-10}) sustituido con cicloalquilo(C_{3-6}), o R^c y R^1 , junto con el átomo de nitrógeno, pueden formar un anillo heterocíclico o un anillo heterocíclico sustituido, siendo los sustituyentes hidroxilo, alquilo(C_{1-6}), hidroxilo-alquilenilo(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6})alquilenilo(C_{1-6}), amino, ciano, halógeno o arilo;
- 10 R^1 es hidrógeno, alquilo(C_{1-10}), alquilo(C_{1-10}) sustituido, arilo(C_{6-10}) o arilo(C_{6-10}) sustituido, heterociclilo(C_{5-9}), heterociclilo(C_{5-9}) sustituido; siendo los sustituyentes de los grupos alquilo, arilo o heterociclilo hidroxilo, alquilo(C_{1-6}), hidroxilo-alquilenilo(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6}), cicloalquilo(C_{3-6}), alcoxi(C_{1-6})alquilenilo(C_{1-6}), amino, ciano, halógeno o arilo;
- 15 cada R^2 es independientemente hidrógeno, $-OH$, alquilo(C_{1-6}), alquilo(C_{1-6}) sustituido, alcoxi(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6}) sustituido, $-C(O)$ -alquilo(C_{1-6}) (alcanoílo), $-C(O)$ -alquilo(C_{1-6}) sustituido, $-C(O)$ -arilo(C_{6-10}) (arilo), $-C(O)$ -arilo(C_{6-10}) sustituido, $-C(O)OH$ (carboxilo), $-C(O)O$ -alquilo(C_{1-6}) (alcoxicarbonilo), $-C(O)O$ -alquilo(C_{1-6}) sustituido, $-NR^aR^b$, $-C(O)NR^aR^b$ (carbamoílo), $-C(O)NR^aR^b$ sustituido, halo, nitro, o ciano; siendo los sustituyentes de los grupos alquilo, arilo o heterociclilo hidroxilo, alquilo(C_{1-6}), hidroxiloalquilenilo(C_{1-6}), alcoxi(C_{1-6}), cicloalquilo(C_{3-6}), alcoxi(C_{1-6})alquilenilo(C_{1-6}), amino, ciano, halógeno o arilo; y n es 1, 2, 3 o 4;
- 20 cada R^a y R^b es independientemente hidrógeno, alquilo(C_{1-6}), cicloalquilo(C_{3-8}), alcoxi(C_{1-6}), haloalquilo(C_{1-6}), cicloalquilo(C_{3-8})alquilo(C_{1-6}), alcanoílo(C_{1-6}), hidroxiloalquilo(C_{1-6}), arilo, ariloalquilo(C_{1-6}), Het, Het-alquilo(C_{1-6}) o alcoxicarbonilo(C_{1-6});
- X^2 es un enlace o un grupo de unión; y el grupo auxiliar R^3 es una proteína o un péptido; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 25 2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque X^1 es un átomo de azufre.
3. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque X^1 es un átomo de oxígeno.
4. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque X^1 es $-NR^c-$, siendo R^c hidrógeno, alquilo(C_{1-6}) o alquilo(C_{1-6}) sustituido; siendo los sustituyentes de alquilo cicloalquilo(C_{3-6}), hidroxilo, alcoxi(C_{1-6}), amino, ciano o arilo.
- 30 5. Compuesto según la reivindicación 4, caracterizado porque X^1 es $-NH-$.
6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, caracterizado porque R^1 y R^c juntos forman un anillo heterocíclico o un anillo heterocíclico sustituido.
7. Compuesto según la reivindicación 6, caracterizado porque R^1 y R^c juntos forman un anillo morfolino, piperidino, pirrolidino o piperazino, sustituido o no sustituido.
- 35 8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 7, caracterizado porque R^1 es hidrógeno, alquilo(C_{1-4}) o alquilo(C_{1-4}) sustituido.

9. Compuesto según la reivindicación 8, caracterizado porque R^1 es hidrógeno, CH_3- , CH_3-CH_2- , $CH_3CH_2CH_2-$, hidroxialquileo(C_1-C_4) o alcoxi(C_1-C_4)alquileo(C_1-C_4).
10. Compuesto según la reivindicación 9, caracterizado porque R^1 es hidrógeno, CH_3- , CH_3-CH_2- , $CH_3-O-CH_2CH_2-$ o $CH_3-CH_2-O-CH_2CH_2-$.
- 5 11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 10, caracterizado porque R^2 es hidrógeno, halógeno o alquilo(C_1-C_4).
12. Compuesto según la reivindicación 11, caracterizado porque R^2 es hidrógeno, cloro, bromo, CH_3- o CH_3-CH_2- .
- 10 13. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12, caracterizado porque los sustituyentes de los grupos alquilo, arilo o heterociclilo son hidroxilo, alquilo(C_1-C_6), hidroxialquileo(C_1-C_6), alcoxi(C_1-C_6), alcoxi(C_1-C_6)alquileo(C_1-C_6), cicloalquilo(C_3-C_6), amino, ciano, halógeno o arilo.
14. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 13, caracterizado porque X^2 es un enlace o una cadena que tiene hasta aproximadamente 24 átomos; seleccionándose los átomos de entre el grupo consistente en carbono, nitrógeno, azufre, oxígeno no peróxido y fósforo.
- 15 15. Compuesto según la reivindicación 14, caracterizado porque X^2 es un enlace o una cadena que tiene entre aproximadamente 4 y aproximadamente 12 átomos.
16. Compuesto según la reivindicación 14, caracterizado porque X^2 es un enlace o una cadena que tiene entre aproximadamente 6 y aproximadamente 9 átomos.
17. Compuesto según la reivindicación 14, caracterizado porque X^2 es



- 20 18. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 17, caracterizado porque R^3 es un péptido.
19. Compuesto según la reivindicación 18, caracterizado porque el péptido tiene entre 2 y aproximadamente 200 residuos de aminoácido.
- 25 20. Compuesto según la reivindicación 19, caracterizado porque el péptido tiene entre 10 y aproximadamente 200 residuos de aminoácido.
21. Composición farmacéutica que incluye un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 20 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 30 22. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 20 para su uso en la prevención o el tratamiento de un estado o síntoma patológico en un mamífero en el que está implicada la actividad de los receptores de TLR y donde se desea un antagonismo de dicha actividad, en un mamífero que lo requiera.
23. Compuesto según la reivindicación 22, caracterizado porque dicho estado o síntoma es cáncer, una enfermedad bacteriana, una enfermedad viral, una enfermedad autoinmune o la enfermedad de Crohn.
- 35 24. Compuesto según la reivindicación 23, caracterizado porque la bacteria es *Bacillus anthracis* (ántrax), *Listeria monocytogenes*, *Francisella tularensis* o *Salmonella*.
25. Compuesto según la reivindicación 24, caracterizado porque la *Salmonella* es *S. typhimurium* o enteritidis.
26. Compuesto según la reivindicación 23, caracterizado porque el virus es un ARN-virus, un producto de un ARN-virus o un ADN-virus.
- 40 27. Compuesto según la reivindicación 26, caracterizado porque el ADN-virus es el virus de la hepatitis B.

28. Compuesto según la reivindicación 23, caracterizado porque el cáncer puede ser un cáncer sensible al interferón, por ejemplo leucemia, linfoma, mieloma, melanoma o cáncer renal.
29. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 20 para su uso en terapia médica.
- 5 30. Compuesto según la reivindicación 29, caracterizado porque la terapia médica es el tratamiento de cáncer, una enfermedad bacteriana, una enfermedad viral, una enfermedad autoinmune o la enfermedad de Crohn.
31. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 20 para su uso en el tratamiento de cáncer, una enfermedad bacteriana, una enfermedad viral, una enfermedad autoinmune o la enfermedad de Crohn.
- 10 32. Compuesto según la reivindicación 31, caracterizado porque el compuesto se suministra en una composición que también incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Fig. 1

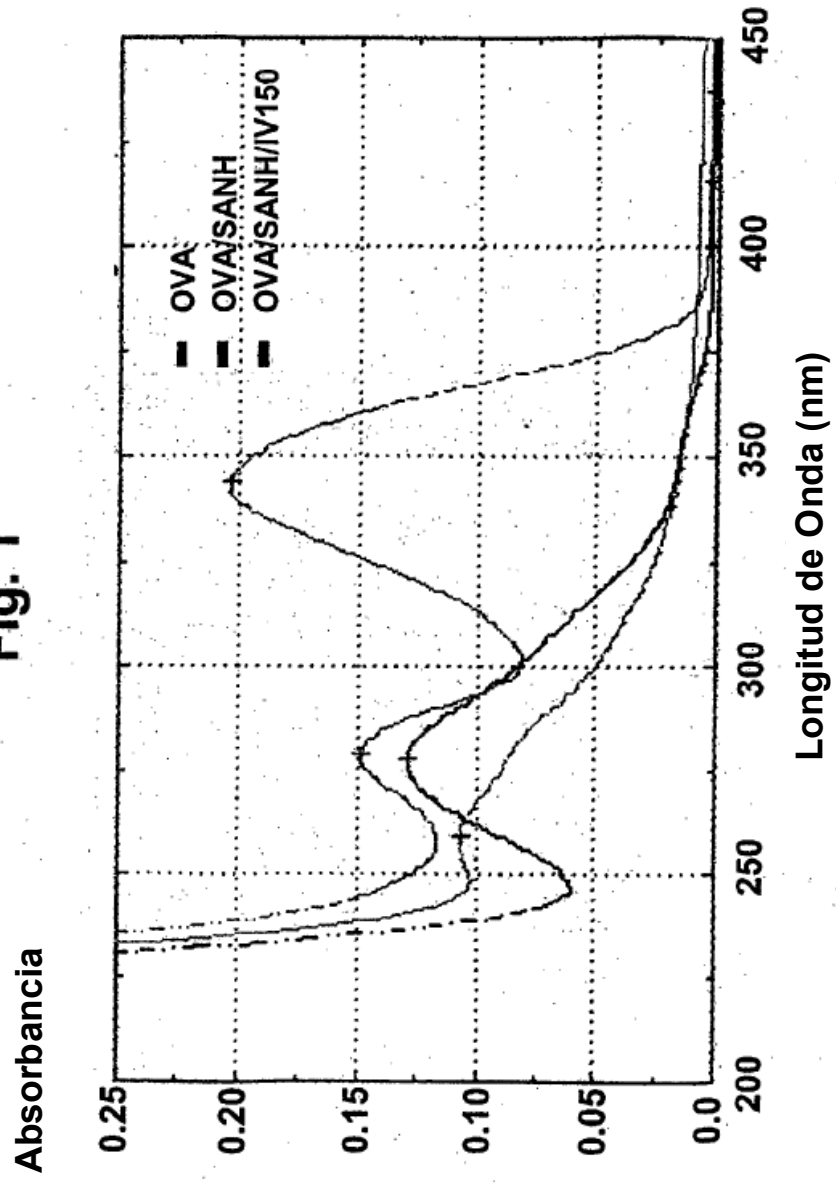


Fig. 2

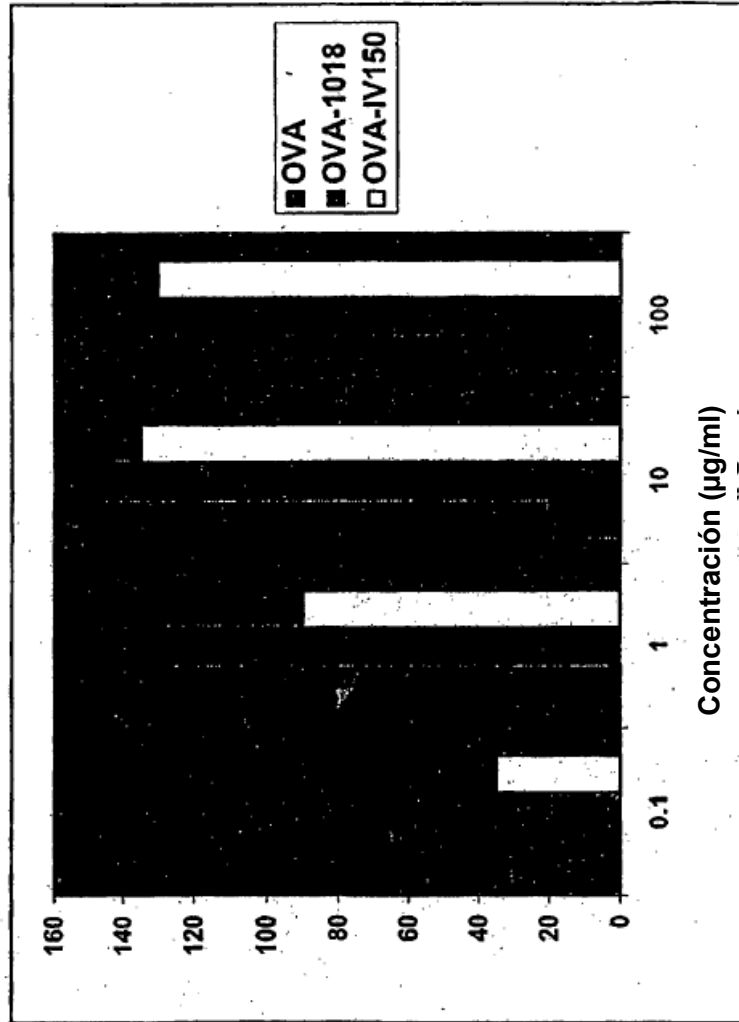


Fig. 3

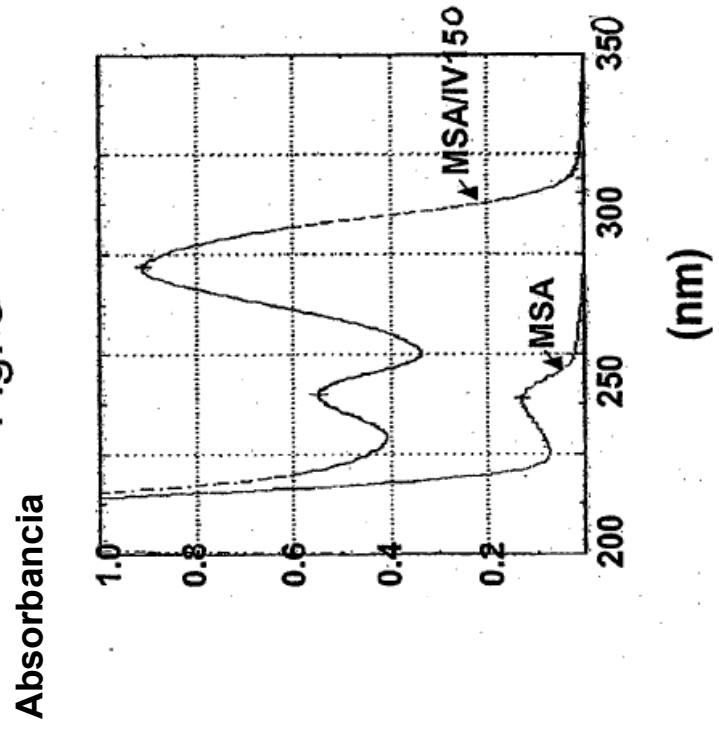


Fig. 4B

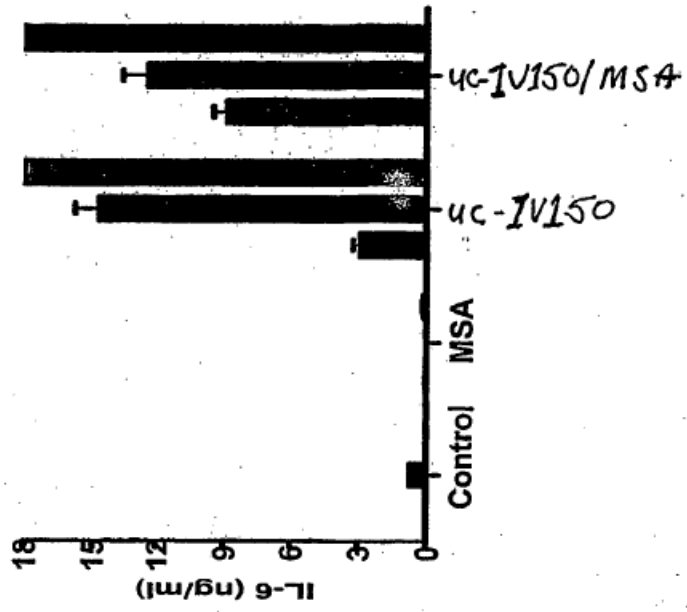


Fig. 4A

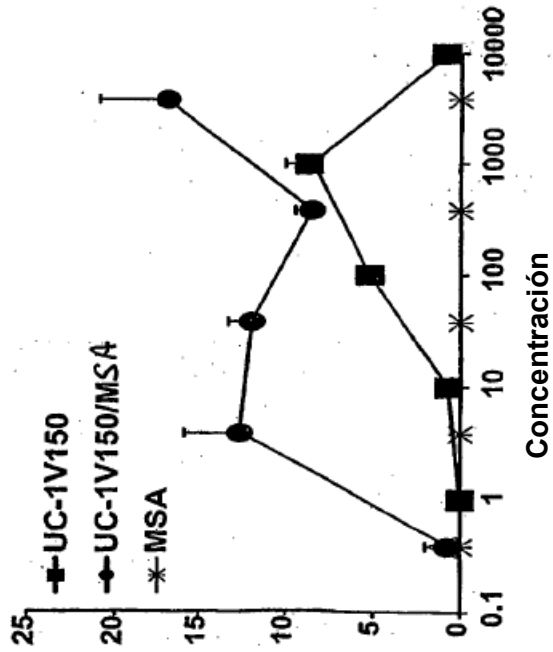


Fig. 5A

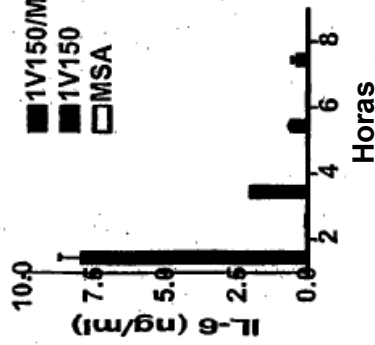


Fig. 5B

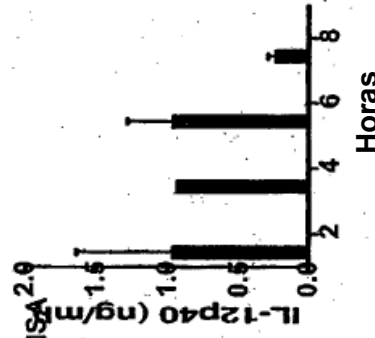


Fig. 5C

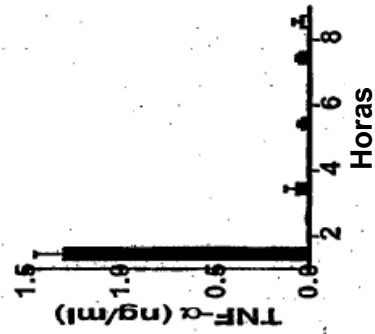


Fig. 5D

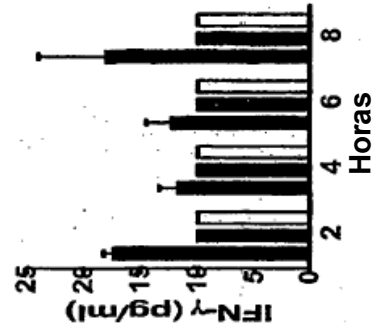


Fig. 6B

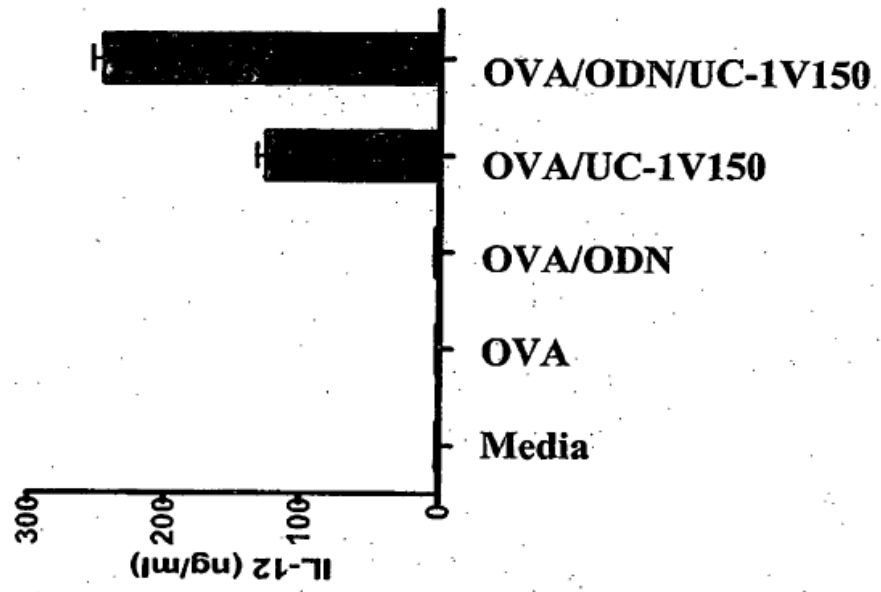


Fig. 6A

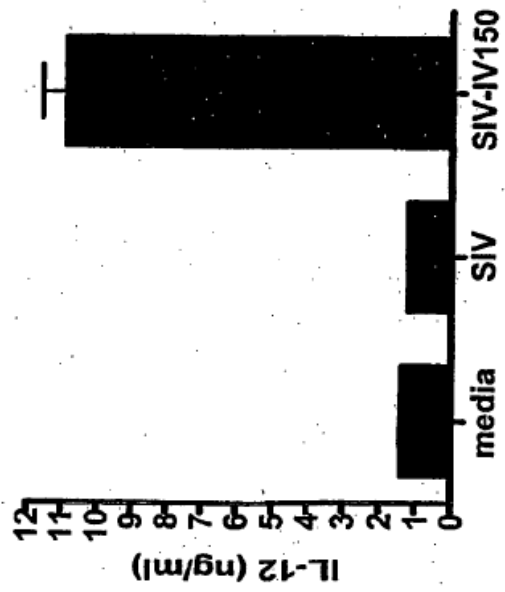


Fig. 7A

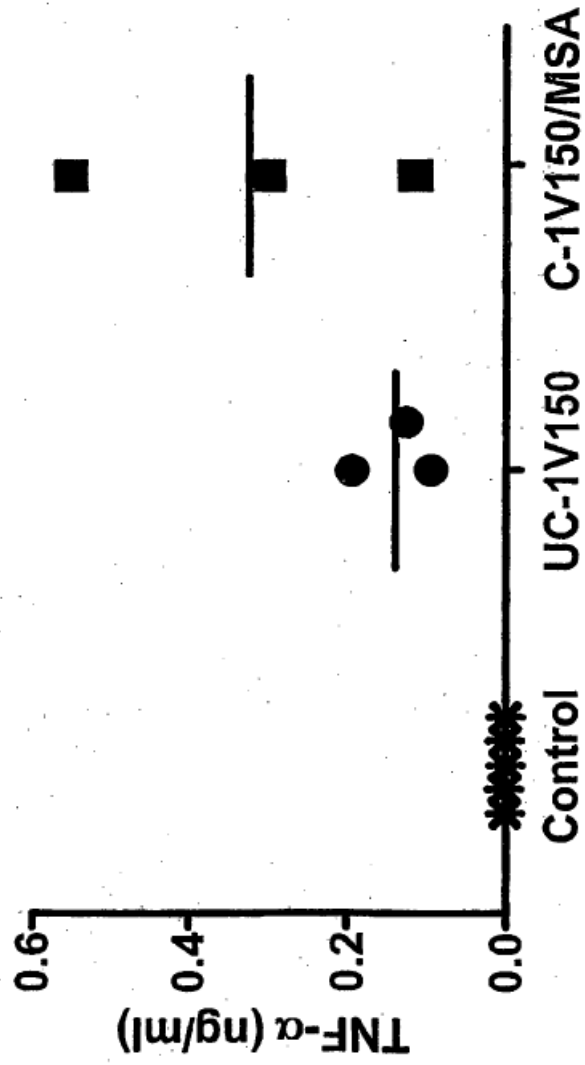


Fig. 7B

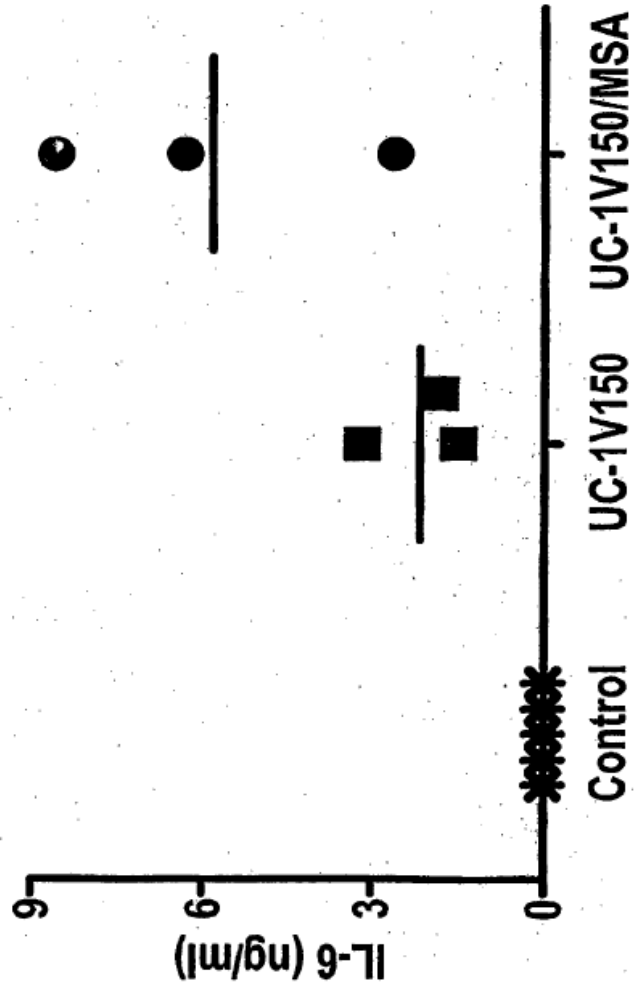


Fig. 8

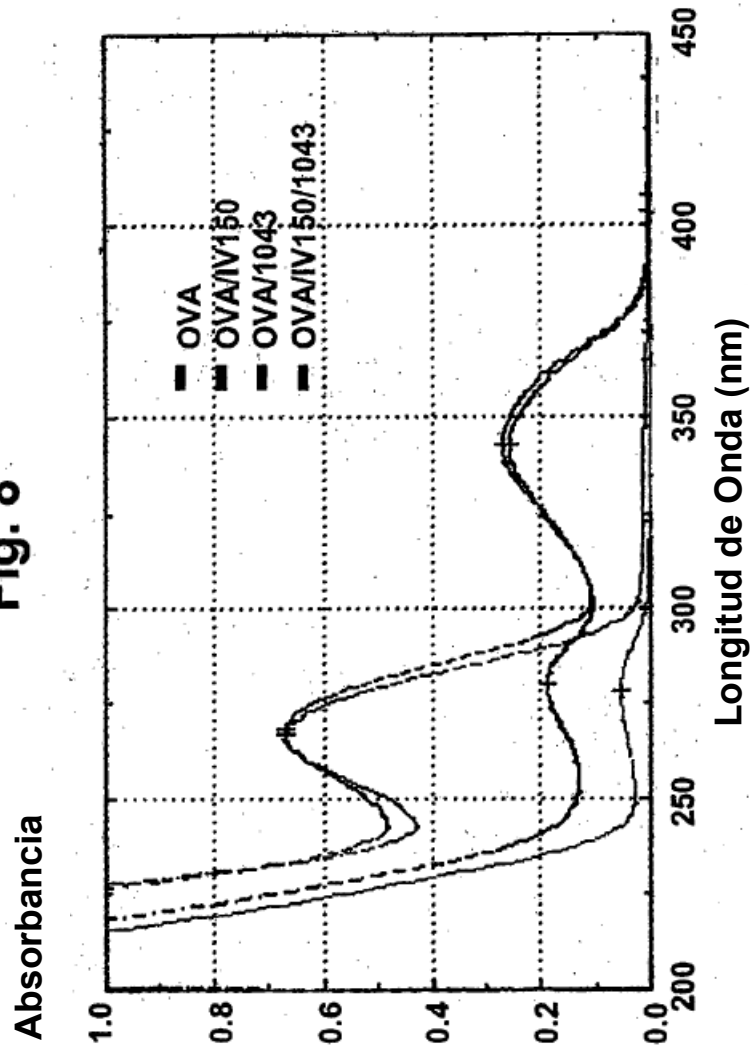


Fig. 9
Inducción de IL-2 en BMDC

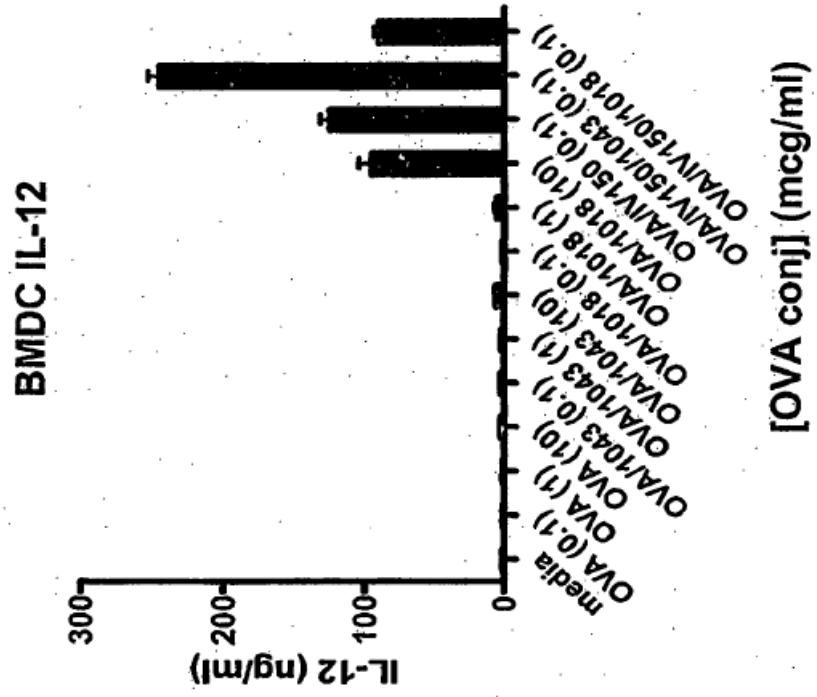


Fig. 10

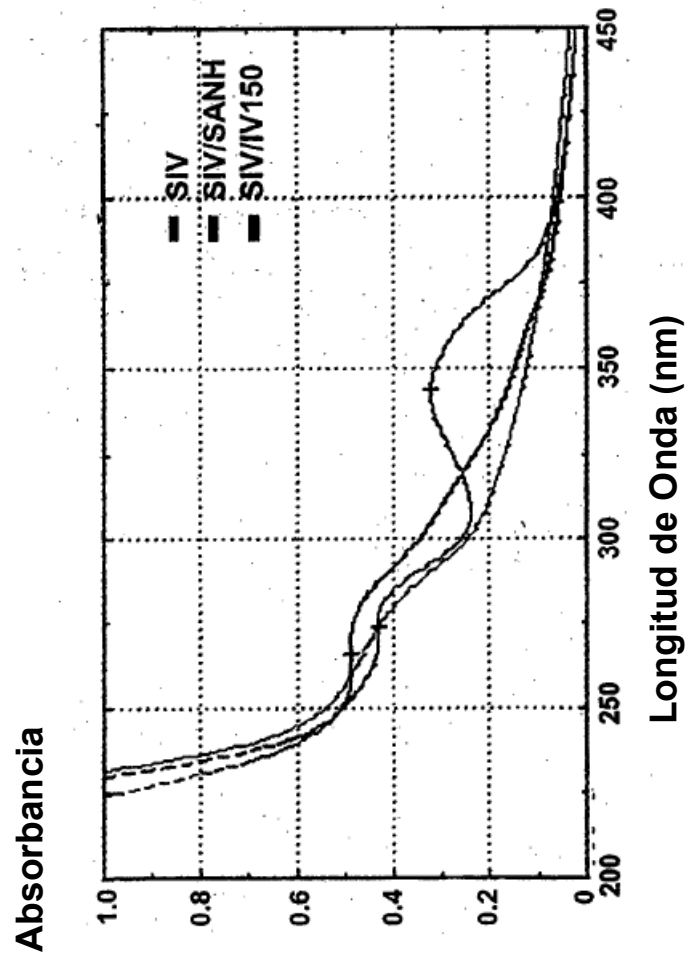


Fig. 11

BMDC IL-12

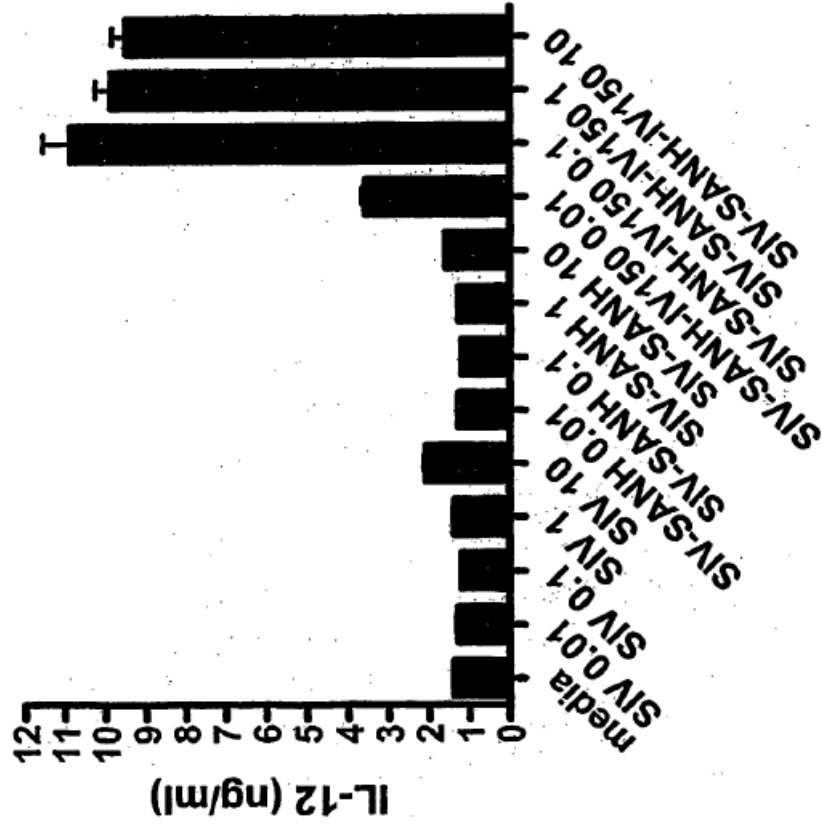
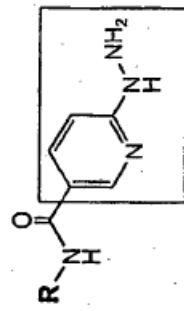
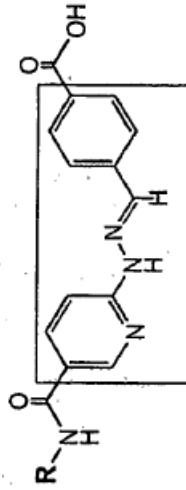


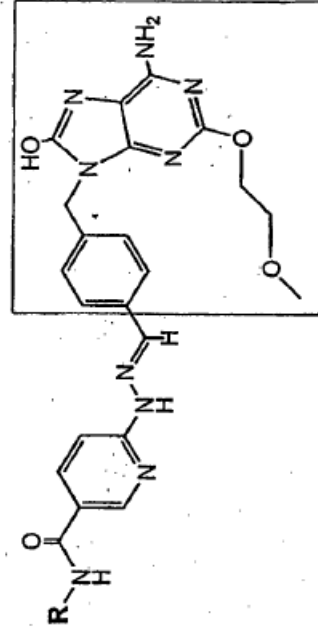
Fig. 12



SANH



SANH-SFB



SANH-IV150

Fig. 13A

1 2 3 4

1 2 3 4

1: OVA
2: OVA/SANH
3: OVA/SANH/SFB
4: OVA/SANH/IV150

Anti-OVA

Anti-IV150

Fig. 13B