

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 098**

51 Int. Cl.:

**C07D 213/75** (2006.01)

**A61K 31/505** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

**C07D 239/48** (2006.01)

**C07D 239/47** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.10.2013 PCT/EP2013/070619**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.04.2014 WO14053595**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2013 E 13779156 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2018 EP 2903967**

54 Título: **Derivados de acilaminopirimidina para el tratamiento de infecciones víricas y otras enfermedades**

30 Prioridad:

**05.10.2012 EP 12187519**

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

**20.02.2019**

73 Titular/es:

**JANSSEN SCIENCES IRELAND UC (100.0%)  
Eastgate Village, Eastgate  
Little Island, County Cork, IE**

72 Inventor/es:

**MC GOWAN, DAVID CRAIG;  
PIETERS, SERGE MARIA ALOYSIUS;  
EMBRECHTS, WERNER;  
LAST, STEFAAN JULIEN;  
JONCKERS, TIM HUGO MARIA y  
RABOISSON, PIERRE JEAN-MARIE BERNARD**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 701 098 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de acilaminopirimidina para el tratamiento de infecciones víricas y otras enfermedades

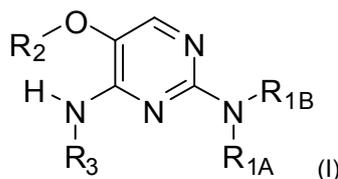
Esta invención se refiere a derivados de acilaminopirimidina, a procesos para su preparación, a composiciones farmacéuticas y a su uso en terapia.

5 La presente invención se refiere a derivados de acilaminopirimidina para su uso en el tratamiento de infecciones víricas, trastornos inmunitarios y cáncer, o como un adyuvante de una vacuna donde se desea la inducción de interferón. En el tratamiento de ciertas infecciones víricas, se pueden administrar inyecciones regulares de interferón (IFN-tipo 1), como en el caso del virus de la hepatitis C (VHC). Para más información remítase a Fried *et al.* Peginterferon-alfa plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection, *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82. Los inductores de IFN que son moléculas de bajo peso molecular que se pueden administrar por vía oral ofrecen las ventajas potenciales de una inmunogenicidad reducida y comodidad de administración. Por lo tanto, los inductores de IFN novedosos son una nueva clase de fármacos potencialmente eficaces para el tratamiento de infecciones víricas. Para consultar un ejemplo de la bibliografía de un inductor de IFN que es una molécula de bajo peso molecular con un efecto antivírico, remítase a De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P. *Science* 1978, 200, 563-565.

Se divulgan compuestos similares a la presente invención en el documento WO2012/136834. Se han divulgado moduladores de IFN con estructuras de pirimidina en Bello *et al.* *J. Med Chem.* **2008**, 51, 2734-2743, US 5 434 157A y WO2006/053109.

20 Sin embargo, se requiere disponer con urgencia de inductores de interferón novedosos que presenten un perfil de seguridad mejorado en comparación con los compuestos conocidos en la actualidad.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I)



o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, donde

R<sub>1A</sub> es hidrógeno,

25 R<sub>1B</sub> es un grupo acilo o aciloxi,

R<sub>2</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, arilalquilo o heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, di(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, (alquil C<sub>1-6</sub>)amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, heterociclo bicíclico, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo, y

30 R<sub>3</sub> es arilalquilo o alquilo C<sub>1-8</sub> cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, di(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, (alquil C<sub>1-6</sub>)amino, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico aromático o alifático, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo.

35 En una primera realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I) donde R<sub>1B</sub> es acilo y donde R<sub>2</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, preferentemente -CH<sub>3</sub> y R<sub>3</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub> sustituido con un éster alquílico.

En una segunda realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I) donde R<sub>1B</sub> es isobutilo y donde R<sub>2</sub> es -CH<sub>3</sub> y R<sub>3</sub> es isobutirato de heptan-3-ilo.

40 Los compuestos de fórmula (I) en cualquier forma estereoquímica y sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables tienen actividad como agentes farmacéuticos, en particular como inductores de interferón.

Por tanto, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, junto con uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

45 Además, un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la presente invención, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables se puede utilizar como un medicamento.

Otro aspecto de la invención consiste en que un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, o dicha composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables se puede utilizar según corresponda en el tratamiento de un trastorno en el que intervenga la inducción de interferón.

- 5 El término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo alifático saturado de cadena lineal o de cadena ramificada que contiene el número especificado de átomos de carbono.

El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "acilo" se refiere al grupo definido como  $-(C=O)R$ , donde R es un alquilo, cicloalquilo, arilo o heteroarilo sustituido o no sustituido.

- 10 El término "aciloxi" se refiere al grupo definido como  $-(C=O)OR$ , donde R es un alquilo, cicloalquilo, arilo o heteroarilo sustituido o no sustituido.

El término "alqueno" se refiere a un alquilo según se ha definido anteriormente constituido por al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono.

- 15 El término "alquino" se refiere a un alquilo según se ha definido anteriormente constituido por al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono.

El término "cicloalquilo" se refiere a un anillo carbocíclico que contiene el número especificado de átomos de carbono.

El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo (cadena de carbono e hidrógeno) unido mediante un enlace sencillo a oxígeno (p. ej., un grupo metoxi o un grupo etoxi).

- 20 El término "arilo" se refiere a una estructura anular aromática que comprende opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S, en particular entre N y O. Dicha estructura anular aromática puede tener 5, 6 o 7 átomos anulares. En particular, dicha estructura anular aromática puede tener 5 o 6 átomos anulares.

- 25 La expresión "heterociclo bicíclico" se refiere a una estructura anular aromática, según se ha definido para el término "arilo", que comprende dos anillos aromáticos fusionados. Cada anillo comprende opcionalmente heteroátomos seleccionados entre N, O y S, en particular entre N y O.

El término "arilalquilo" se refiere a una estructura anular aromática, según se ha definido para el término "arilo", opcionalmente sustituida con un grupo alquilo.

El término "heteroarilalquilo" se refiere a una estructura anular aromática, según se ha definido para el término "heteroarilo", sustituida opcionalmente con un grupo alquilo.

- 30 El término "heterociclo" se refiere a moléculas que están saturadas o parcialmente saturadas e incluye óxido de etilo, tetrahidrofurano, dioxano u otros éteres cíclicos. Los heterociclos que contienen nitrógeno incluyen, por ejemplo, azetidina, morfolina, piperidina, piperazina, pirrolidina y similares. Otros heterociclos incluyen, por ejemplo, tiomorfolina, dioxolinilo y sulfonas cíclicas.

- 35 Los grupos "heteroarilo" son grupos heterocíclicos de naturaleza aromática. Estos son grupos monocíclicos, bicíclicos o policíclicos que contienen uno o más heteroátomos seleccionados entre N, O o S. Los grupos heteroarilo pueden ser, por ejemplo, imidazolilo, isoxazolilo, furilo, oxazolilo, pirrolilo, piridonilo, piridilo, piridazinilo, pirazinilo...

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen sus sales de adición con ácido y con base. Las sales de adición con ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales atóxicas. Las sales de adición con base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales atóxicas.

- 40 Los compuestos de la invención también pueden existir en formas solvatadas y no solvatadas. El término "solvato" se utiliza en la presente para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, etanol.

El término "polimorfo" se refiere a la capacidad del compuesto de la invención de existir en más de una forma o estructura cristalina.

- 45 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como productos amorfos o cristalinos. Se pueden obtener, por ejemplo, como masas compactas sólidas, polvos o películas mediante métodos tales como la precipitación, cristalización, liofilización, secado por pulverización o secado por evaporación. Se pueden administrar solos o combinados con uno o más compuestos de la invención diferentes o combinados con uno o más fármacos diferentes. En general, se administrarán como una formulación asociados con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se utiliza en la presente para describir cualquier ingrediente
- 50 que no sea el o los compuestos de la invención. La selección del excipiente depende en gran medida de factores

tales como la vía particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y estabilidad, y la naturaleza de la forma farmacéutica.

5 Los compuestos de la presente invención o cualquier subgrupo de estos se pueden formular en varias formas farmacéuticas con el fin de poderlos administrar. Como composiciones adecuadas, se pueden citar todas las composiciones empleadas normalmente para administrar fármacos por vía sistémica. Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, se combina una cantidad eficaz del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal de adición, como principio activo, en mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, pudiendo adoptar dicho portador una gran variedad de formas dependiendo de la forma del preparado que se desee para la administración. Estas composiciones farmacéuticas se encuentran convenientemente en una forma farmacéutica unitaria adecuada, por ejemplo, para la administración oral, rectal o percutánea. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en una forma farmacéutica oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparados líquidos orales tales como suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones y soluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, diluyentes, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, pastillas, cápsulas y comprimidos. Debido a su administración sencilla, los comprimidos y las cápsulas representan las formas farmacéuticas unitarias orales más convenientes, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. También se incluyen los preparados en forma sólida que se pueden convertir, poco antes de su uso, en formas líquidas. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, combinados opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, donde los aditivos no provocan ningún efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de varias formas, p. ej., como un parche transdérmico, como una unción dorsal puntual, como una pomada. Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar por inhalación o insuflación mediante métodos y formulaciones empleados en la técnica para la administración por esta vía. De este modo, en general los compuestos de la presente invención se pueden administrar a los pulmones en forma de una solución, una suspensión o un polvo seco.

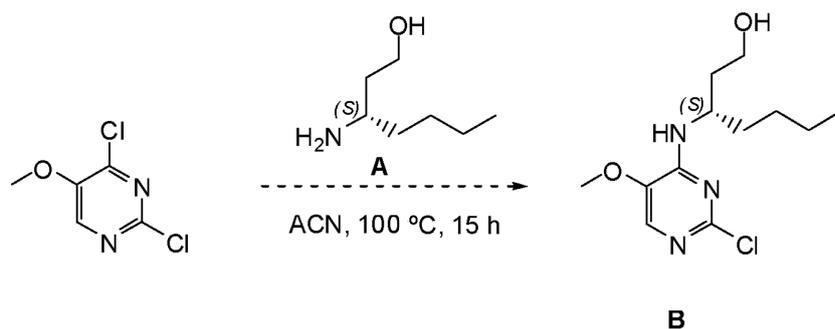
Es especialmente conveniente formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en formas farmacéuticas unitarias debido a la uniformidad de la dosis y a que se pueden administrar fácilmente. La expresión "forma farmacéutica unitaria", tal como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado asociada con el portador farmacéutico requerido. Algunos ejemplos de dichas formas farmacéuticas unitarias son comprimidos (incluidos los comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, pastillas, sobres de polvos, obleas, supositorios, soluciones o suspensiones inyectables y similares, y múltiples segregados de estos.

Los expertos en el tratamiento de enfermedades infecciosas serán capaces de determinar la cantidad eficaz a partir de los resultados de las pruebas que se presentan posteriormente en la presente. En general, se considera que una cantidad diaria eficaz sería de 0.01 mg/kg a 50 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de 0.1 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Podría resultar adecuado administrar la dosis requerida como dos, tres, cuatro o más subdosis en intervalos adecuados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas farmacéuticas unitarias, por ejemplo, que contengan de 1 a 1000 mg y, en particular, de 5 a 200 mg de principio activo por forma farmacéutica unitaria.

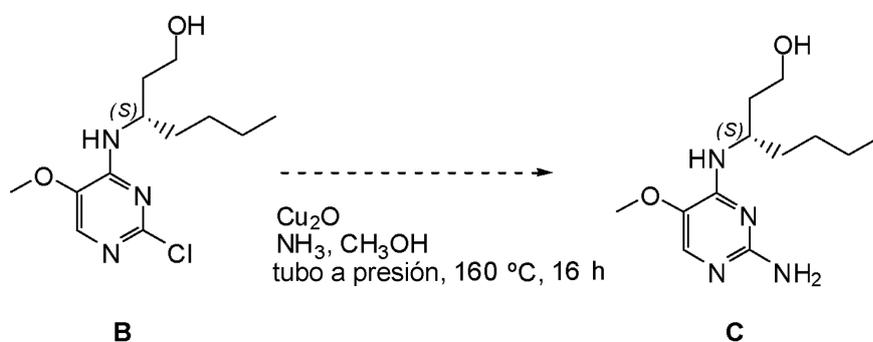
La dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de fórmula (I) utilizado, la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso y el estado físico general del paciente particular, así como también de otra medicación que el individuo pueda estar tomando, como bien sabrán los expertos en la técnica. Además, es obvio que la cantidad eficaz se puede reducir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescriba los compuestos de la presente invención. Por consiguiente, los intervalos de la cantidad eficaz que se han mencionado anteriormente son solamente orientativos y no se pretende que limiten el alcance ni el uso de la invención de ningún modo.

#### Sección experimental

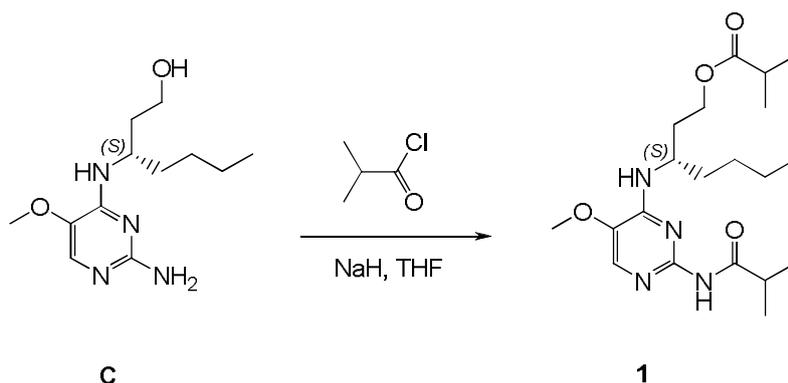
##### Preparación del compuesto 1



- 5 Se introdujeron 2,4-dicloro-5-metoxipirimidina (2.0 g, 11.7 mmol), acetonitrilo (20 mL), diisopropiletilamina (3.02 g, 23.4 mmol) y (S)-3-aminoheptanol (4.59 g, 35.1 mmol) en un vial de 50 mL dotado de una barra agitadora magnética. Se permitió que la mezcla de reacción se agitara durante 15 horas a temperatura ambiente. Se eliminaron los disolventes a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando un gradiente desde diclorometano hasta un 10% de metanol en diclorometano. Se agruparon las mejores fracciones y se eliminaron los disolventes a presión reducida para obtener un sólido blanco, **B**.



- 10 Se añadió **B** (1 g, 3.66 mmol), NH<sub>3</sub> (10 mL, ac.), bicarbonato amónico (3.34 g, 42.3 mmol) y óxido de cobre (I) (121 mg, 0.85 mmol) en un vial de vidrio con paredes gruesas dotado de una barra agitadora magnética. Se cerró herméticamente el vial, se colocó en un baño de aceite y se calentó a 150 °C durante 15 horas. La mezcla de reacción se extrajo con diclorometano (3 x 25 mL), se agruparon las fases orgánicas y se secaron con sulfato de magnesio. Se eliminaron los sólidos por filtración y se eliminaron los disolventes del filtrado a presión reducida. El crudo **C** se purificó mediante HPLC.

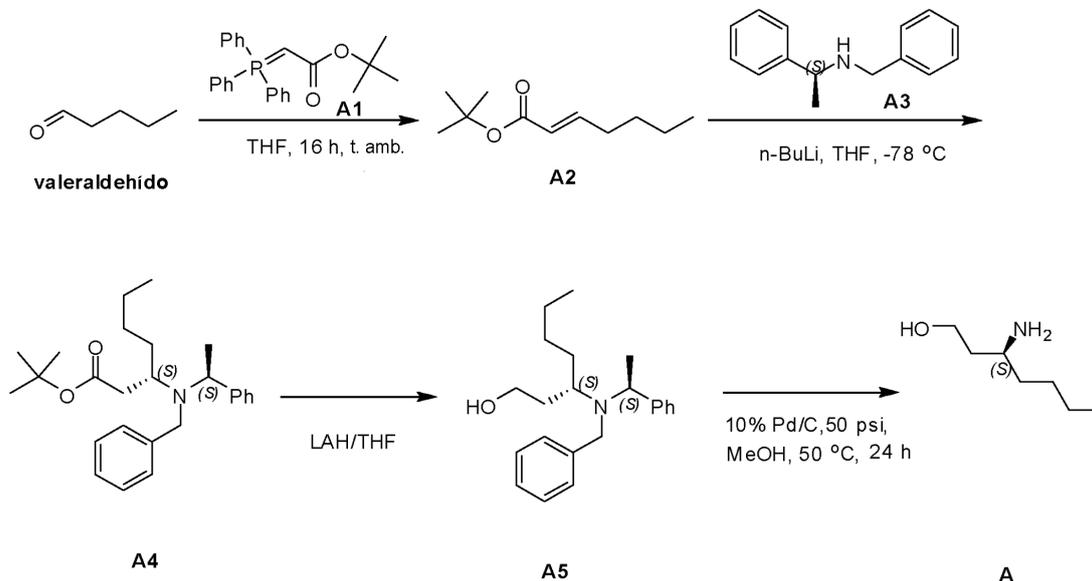


- 15 Se disolvió **C** (463 mg, 1.82 mmol) en THF (13 mL) y se enfrió a -78 °C. Se añadió NaH (145 mg, 3.64 mmol, dispersión al 60% en aceite mineral) en una porción y se agitó a -78 °C durante 30 minutos. Se añadió cloruro de isobutirilo (389 µL, 3.64 mmol) gota a gota a -78 °C y se agitó durante 10 minutos. Se retiró el baño de refrigeración y se permitió que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se desactivó con agua y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC (RP Vydac Denali C18 10 µm, 200 g, 5 cm, fase móvil: solución de NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> al 0.25% en agua, acetonitrilo), se recogieron las fracciones deseadas y se eliminaron los disolventes a presión reducida para obtener el producto puro.
- 20

LC-MS m/z = 395 (M+H), Tiempo de retención 1.1 minutos, LC método A.

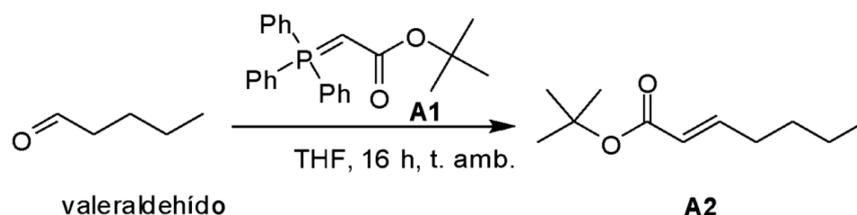
$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  ppm 0.83 (t,  $J=6.90$  Hz, 3 H) 0.98 - 1.07 (m, 12 H) 1.16 - 1.35 (m, 4 H) 1.44 - 1.62 (m, 2 H) 1.84 (c,  $J=6.78$  Hz, 2 H) 2.45 (spt,  $J=7.00$  Hz, 1 H) 2.96 (s. a., 1 H) 3.80 (s, 3 H) 3.92 - 4.07 (m, 2 H) 4.18 - 4.31 (m, 1 H) 6.69 (d,  $J=9.03$  Hz, 1 H) 7.60 (s, 1 H) 9.49 (s, 1 H).

**Esquema sintético para la preparación de A**



5

**Preparación de A2**



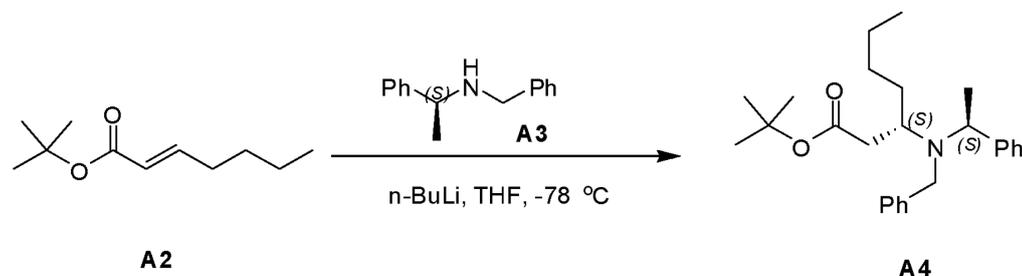
10

A una solución de valeraldehído (43 g, 500 mmol) en THF (1 L), se añadió **A1** (200 g, 532 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se evaporaron los disolventes y el residuo se diluyó en éter de petróleo y se filtró. Los disolventes del filtrado se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en sílice utilizando un gradiente desde éter de petróleo hasta un 3% de acetato de etilo en éter de petróleo, para obtener **A2** (90 g) como un aceite incoloro.

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 6.81-6.77 (m, 1H), 5.68-5.64 (td,  $J=1.2$  Hz, 15.6 Hz, 1H), 2.11-2.09 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.38-1.26 (m, 4H), 0.85-0.81 (t,  $J=7.2$  Hz, 3H).

15

**Preparación del compuesto A4**



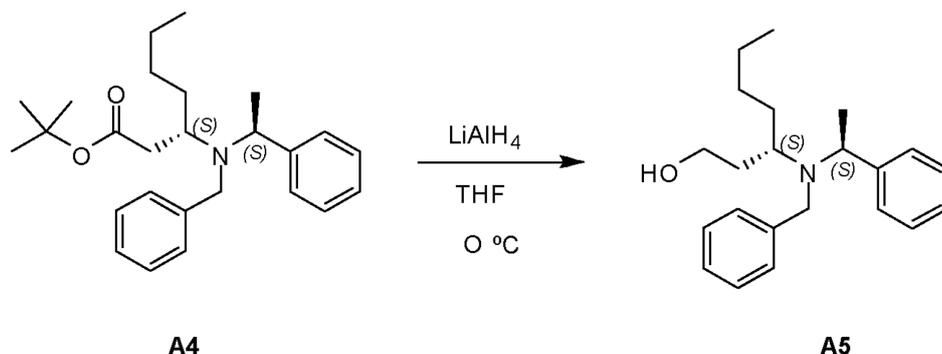
20

Se añadió *n*-butillitio (290 mL, 725 mmol) a una solución agitada de **A3** (165 g, 781 mmol) en THF (800 mL) a  $-78$   $^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, a continuación, se añadió **A2** (90 g, 488.4 mmol) en THF (400 mL) y la reacción se agitó durante 2 horas a  $-78$   $^\circ\text{C}$ . La mezcla se desactivó con una solución ac. sat. de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se calentó hasta temperatura ambiente. El producto se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se

lavó con salmuera, se secó y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con un 5% de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar un aceite incoloro, **A4** (132 g).

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.36-7.16 (m, 10H), 3.75-3.70 (m, 2H), 3.43-3.39 (d,  $J=15.2$  Hz, 1H), 3.33-3.15 (m, 1H), 1.86-1.80 (m, 2H), 1.47-1.37 (m, 2H), 1.32 (s, 9H), 1.26-1.17 (m, 7H), 0.83-0.79 (t,  $J=7.2$  Hz, 3H).

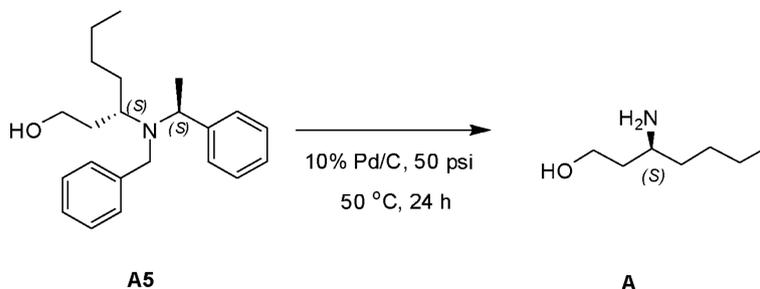
#### 5 Preparación de A5



Se disolvió **A4** (130 g, 328 mmol) en THF (1.5 L) y se añadió LAH (20 g, 526 mmol) a 0 °C en porciones pequeñas. La mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante 2 horas y a continuación se permitió que se calentara hasta temperatura ambiente. La mezcla se desactivó con una solución ac. sat. de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . El producto se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se evaporó. Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio, los sólidos se eliminaron mediante filtración y se concentraron para proporcionar **A5** crudo (100 g), que se utilizó en el siguiente paso sin una purificación adicional.

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.33-7.14 (m, 10H), 3.91-3.86 (m, 1H), 3.80-3.77 (d,  $J=13.6$  Hz, 1H), 3.63-3.60 (d,  $J=13.6$  Hz, 1H), 3.43-3.42 (m, 1H), 3.15-3.10 (m, 1H), 2.70-2.63 (m, 2H), 1.65-1.28 (m, 10H), 0.89-0.81 (m, 3H).

#### 15 Preparación de A



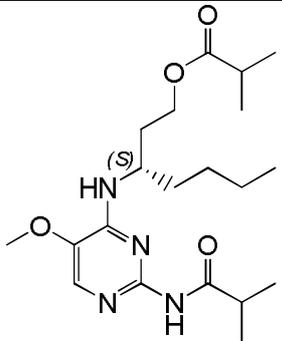
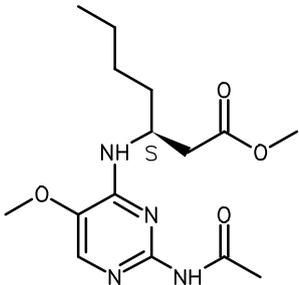
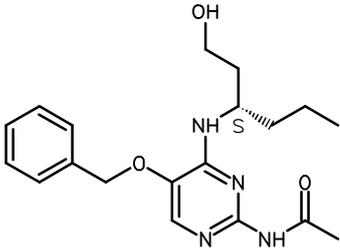
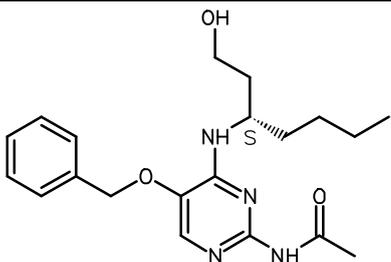
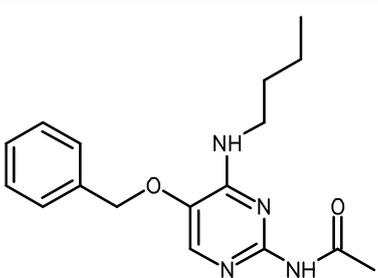
Se hidrogenó una solución de **A5** (38 g, 116.75 mmol) y Pd/C al 10% en metanol (200 mL) con 50 PSI de hidrógeno a 50 °C durante 24 horas. Se filtró la mezcla de reacción y se evaporó el disolvente para obtener **A**.

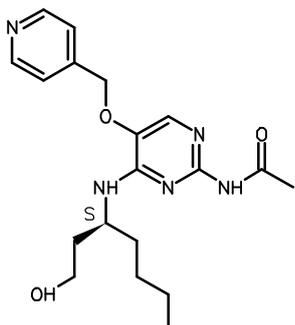
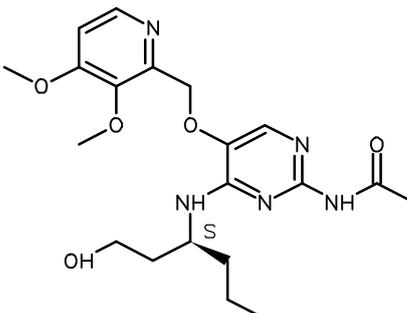
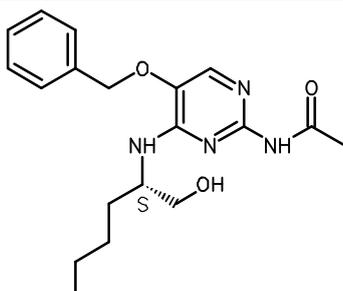
$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  ppm 8.04 (s, 3H), 3.60-3.49 (m, 2H), 3.16-3.15 (m, 1H), 1.71-1.67 (m, 2H), 1.60-1.55 (m, 2H), 1.33-1.26 (m, 4H), 0.90-0.87 (t,  $J=6.8$  Hz, 3H).

#### Método analítico.

Los compuestos 1-8 de la siguiente tabla se caracterizaron por LC-MS de acuerdo con el siguiente método de LC-MS.

Se llevó a cabo la UPLC (cromatografía de líquidos de ultrarresolución) en fase inversa en una columna C18 híbrida con puente de etilsiloxano/sílice (BEH) (1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 x 50 mm; Waters Acquity) con un caudal de 0.8 mL/min. Se utilizaron dos fases móviles (acetato de amonio 10 mM en  $\text{H}_2\text{O}$ /acetonitrilo 95/5; fase móvil B: acetonitrilo) para aplicar unas condiciones de gradiente de un 95% de A y un 5% de B a un 5% de A y un 95% de B en 1.3 minutos, y se mantuvieron estas condiciones durante 0.7 minutos. Se empleó un volumen de inyección de 0.75  $\mu\text{L}$ . El voltaje del cono fue de 30 V para el modo de ionización positivo y de 30 V para el modo de ionización negativo.

	ESTRUCTURA	Masa exacta	Masa experimental [M+H]	Tiempo de retención (min), LCMS
1		394.5	395	1.1
2		324.2	325	0.83
3		358.2	359	0.88
4		372.2	373	0.94
5		314.2	315	1.2

6		373.2	374	0.7
7		419.2	420	0.73
8		358.2	359	0.89

### Producción de IFN- $\alpha$ y aumento del ARNm de CXCL10 *in vivo*

Se evaluó el potencial de los compuestos para inducir la producción de IFN- $\alpha$  y el aumento del ARNm de CXCL10 *in vivo* tras la administración oral a ratones C57BL/6. Se controló en el tiempo la cantidad de IFN- $\alpha$  en la circulación sistémica utilizando un ELISA murino pan-IFN- $\alpha$  (PBL InterferonSource, ref. 42120). Este ELISA reconoce todos los subtipos murinos de IFN- $\alpha$ . CXCL10 es un gen estimulado por interferón (ISG) cuya expresión se induce en un grado sumo tras la unión de IFN-I al receptor IFNAR (receptor de interferón alfa). Los niveles de expresión del ARNm de CXCL10 se controlaron por RT-qPCR.

Para cada compuesto y dosis estudiada, se estudiaron 3 ratones C57BL/6J hembra, de 6-10 semanas de edad, 20-22 g de peso corporal. A los animales se les administró el compuesto 1 como una dosis oral única de 15.5 mg/kg en forma de una solución de 1.55 mg/mL en vehículo de hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina acuosa al 20% utilizando una sonda de alimentación. 0.5, 1, 2, 4 y 7 horas después de la administración de la dosis, se extrajo sangre sistémica de la vena de la cola y se introdujo en tubos que contenían K-EDTA. Se separó el plasma de las células sanguíneas por centrifugación a 1500 g, 10 minutos, 4 °C y se almacenó a -80 °C antes del análisis por ELISA. Se calculó la mediana y la desviación estándar para los 3 animales en cada punto temporal para evaluar la potencia del compuesto.

También se extrajo sangre de la vena de la cola y se introdujo en tubos micronic que contenían 500  $\mu$ L de solución PAXgene (tubos para ARN de la sangre PAXgene de PreAnalytix). Después de la incubación durante toda la noche a temperatura ambiente, los tubos se almacenaron a -20 °C antes de la extracción del ARN total con el kit para el ARN de la sangre PAXgene 96 (PreAnalytix). El ARN purificado se transcribió de manera inversa utilizando cebadores hexaméricos aleatorios (kit de archivos de ADNc de elevada capacidad (*High-Capacity cDNA Archive kit*), Applied Biosystems). Los niveles del ARNm de CXCL10 fueron mediante la tecnología Taqman qPCR (mezcla maestra para PCR universal Taqman, sin UNG AmpErase y ensayo de expresión génica Taqman Mm00445235\_m1 de Applied Biosystems) en un sistema de PCR en tiempo real rápido 7900FT (Applied Biosystems). Los niveles del ARNm de HPRT1 (hipoxantina-fosforribosiltransferasa 1) se utilizaron como control endógeno (Mm01545399\_m1). El método  $\Delta\Delta C_t$  (para la cuantificación relativa) se utilizó para evaluar la regulación de la expresión de CXCL10 por

parte del compuesto en comparación con el control con el vehículo. Se calculó la mediana y la desviación estándar para los 3 animales en cada punto temporal para evaluar la potencia de los compuestos.

**Figuras**

5 Figura 1. Se midieron los niveles de interferón en el hígado (A) y en el plasma (B) después de una única administración oral de 15.5 mg/kg del **compuesto 1** a los ratones.

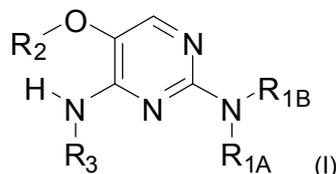
Figura 2. Se midió la expresión de CXCL10 en el hígado (C)\* y en la sangre (D) después de una única **administración** oral de 15.5 mg/kg del **compuesto 1** a los ratones.

*\*se ignoró una muestra correspondiente al punto temporal de 4 h debido a un valor de HPRT1 elevado*

10 Se observó la inducción del interferón endógeno y el aumento de CXCL10 en el hígado y sangre/plasma en ratones tras la administración oral de una única dosis del compuesto **1**.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, donde

5 R<sub>1A</sub> es hidrógeno,

R<sub>1B</sub> es un grupo acilo o aciloxi,

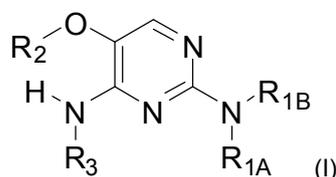
10 R<sub>2</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, arilalquilo o heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, di(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, (alquil C<sub>1-6</sub>)amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, heterociclo bicíclico, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo, y

R<sub>3</sub> es arilalquilo o alquilo C<sub>1-8</sub> cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, di(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, (alquil C<sub>1-6</sub>)amino, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico aromático o alifático, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo.

15 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R<sub>1B</sub> es acilo y donde R<sub>2</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, preferentemente -CH<sub>3</sub> y R<sub>3</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub> sustituido con un éster alquílico.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R<sub>1B</sub> es isobutirilo y donde R<sub>2</sub> es -CH<sub>3</sub> y R<sub>3</sub> es isobutirato de heptan-3-ilo.

4. Un compuesto de fórmula (I)



20

o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, donde

R<sub>1A</sub> es hidrógeno,

R<sub>1B</sub> es un grupo acilo o aciloxi,

25 R<sub>2</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, arilalquilo o heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, di(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, (alquil C<sub>1-6</sub>)amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, heterociclo bicíclico, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo, y

30 R<sub>3</sub> es arilalquilo o alquilo C<sub>1-8</sub> cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, di(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, (alquil C<sub>1-6</sub>)amino, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico aromático o alifático, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo,

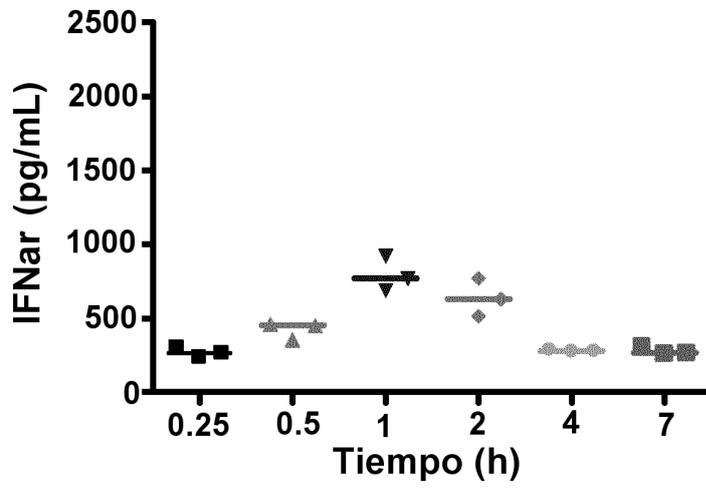
para su uso como una medicina.

35 5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con las reivindicaciones 1-3 o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, junto con uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

6. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con las reivindicaciones 1-3, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la reivindicación 5 como un medicamento.

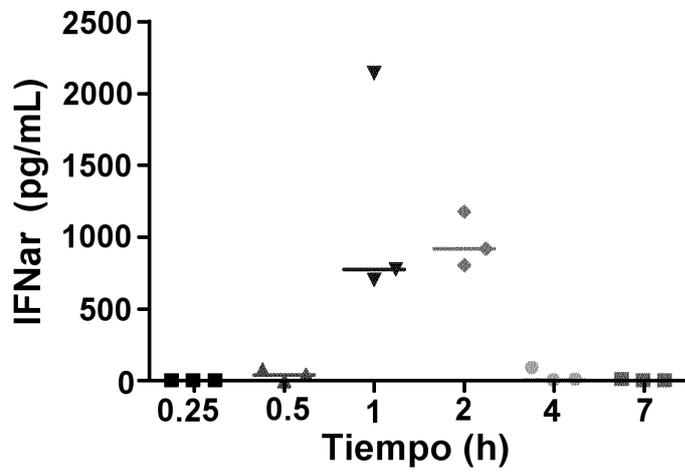
7. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con las reivindicaciones 1-4, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de un trastorno en el que intervenga la inducción de interferón.

### Niveles de IFNa de ratón en el hígado



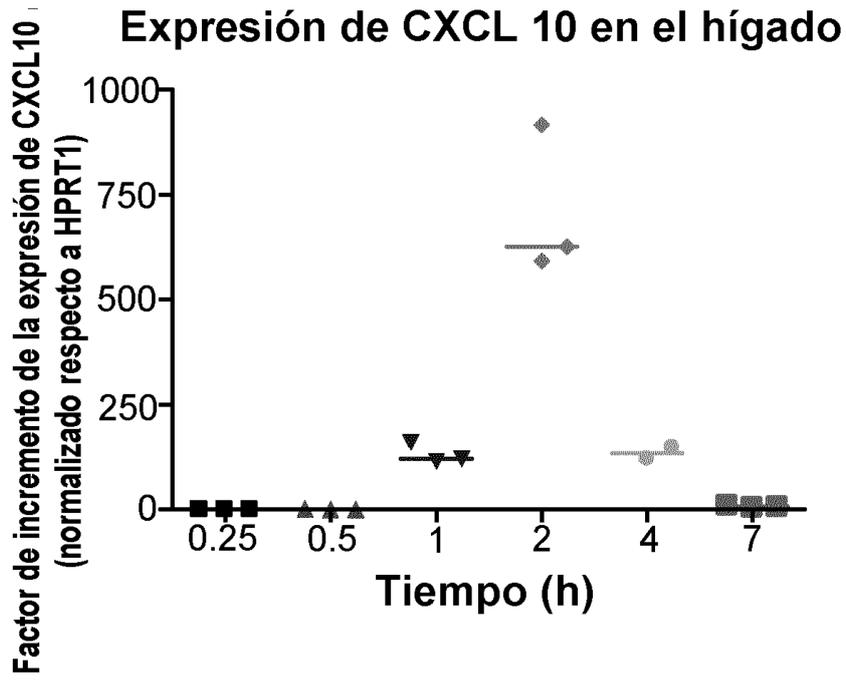
A

### Niveles de IFNa de ratón en el plasma

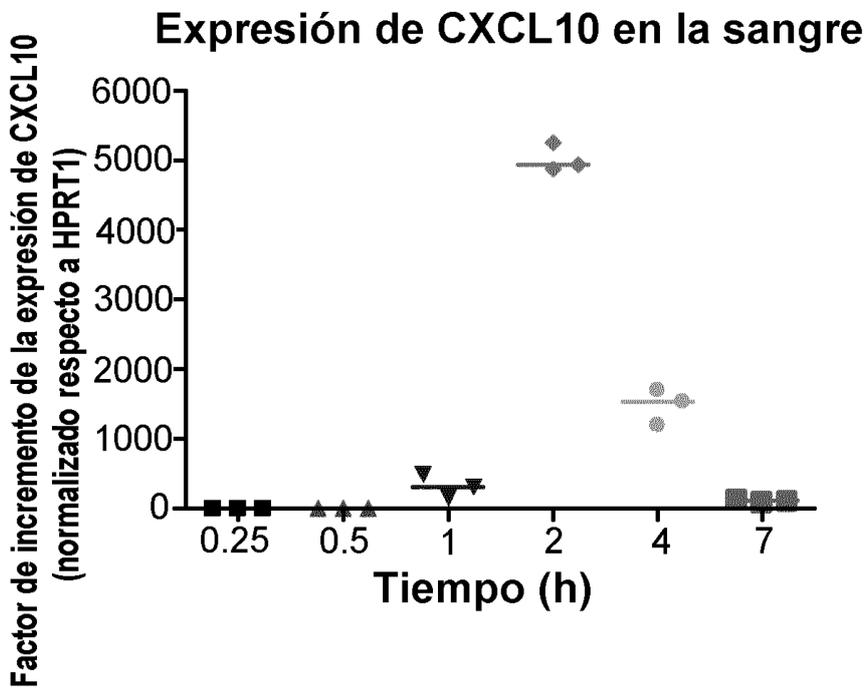


B

Figura 1



C



D

Figura 2