

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 239**

51 Int. Cl.:

C07D 495/04 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2014 PCT/EP2014/066219**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.02.2015 WO15014815**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2014 E 14744834 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2018 EP 3027624**

54 Título: **Derivados de tieno[3,2-d]pirimidinas para el tratamiento de infecciones virales**

30 Prioridad:

30.07.2013 EP 13178534

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

21.02.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MC GOWAN, DAVID CRAIG y
RABOISSON, PIERRE JEAN-MARIE BERNARD**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 701 239 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 tieno[3,2-*d*]pirimidinas para el tratamiento de infecciones virales

Esta invención se refiere a derivados de tieno[3,2-*d*]pirimidina, procesos para su preparación, composiciones farmacéuticas y su uso en el tratamiento de infecciones virales.

5 La presente invención se refiere al uso de derivados de tieno[3,2-*d*]pirimidina en el tratamiento de infecciones virales, trastornos inmunitarios o inflamatorios, en los que está involucrada la modulación, o el agonismo, de receptores tipo Toll (TLR). Los receptores tipo Toll son proteínas transmembrana primarias caracterizadas por un dominio rico en leucina extracelular y una extensión citoplásmica que contiene una región conservada. El sistema
10 inmunitario innato puede reconocer patrones moleculares asociados a patógenos por medio de estos TLR expresados en la superficie celular de ciertos tipos de células inmunitarias. El reconocimiento de patógenos externos activa la producción de citoquinas y la regulación por aumento de las moléculas coestimuladoras en fagocitos. Esto conduce a la modulación del comportamiento de células T.

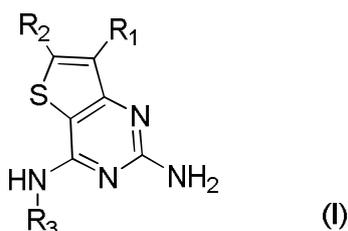
Se ha estimado que la mayoría de las especies de mamíferos tienen entre diez y quince tipos de receptores tipo Toll. Se han identificado trece TLR (denominados TLR1 a TLR13) en humanos y ratones juntos, y se han encontrado
15 formas equivalentes de muchos de estos en otras especies de mamíferos. Sin embargo, equivalentes de cierto TLR encontradas en humanos no están presentes en todos los mamíferos. Por ejemplo, un gen que codifica una proteína análoga a TLR10 en humanos está presente en ratones, pero parece haber sido dañado en cierto punto en el pasado por un retrovirus. Por otro lado, los ratones expresan los TLR 11, 12 y 13, ninguno de los cuales está representado en humanos. Otros mamíferos pueden expresar TLR que no se encuentran en humanos. Otras
20 especies que no son mamíferos pueden tener TLR distintos a los mamíferos, tal como se demuestra por TLR14, que se encuentra en el pez globo Takifugu. Esto puede complicar el proceso de uso de animales experimentales como modelos de inmunidad innata humana.

Para estudios sobre TLR ver los siguientes artículos científicos. Hoffmann, J.A., Nature, 426, p33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K. y Kaisho, T., Annual Rev. Immunology, 21, p335-376, 2003; Ulevitch, R. J., Nature Reviews: Immunology, 4, p512-520, 2004.
25

Los compuestos que indican actividad en los receptores tipo Toll se han descrito anteriormente tales como derivados de purina en el documento WO 2006/117670, derivados de adenina en el documento WO 98/01448 y WO 99/28321, y pirimidinas en el documento WO 2009/067081.

30 Sin embargo, existe una fuerte necesidad de moduladores del receptor tipo Toll novedosos que tengan selectividad preferida, más alta potencia y un perfil de seguridad mejorado en comparación con compuestos de la técnica anterior.

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



35 o una sal, tautómero(s), forma estereoisomérica, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R₁ se selecciona de hidrógeno, halógeno, -CH₃ o -CF₃,

R₂ se selecciona de hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆,

40 R₃ es alquilo C₁₋₈ opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de arilo, ariloxi, halógeno, hidroxilo, alquilamino, dialquilamino, alquenilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, nitrilo, sulfonamida, sulfamida, acil sulfonamida, o

R₃ es un alquilarilo opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de arilo, ariloxi, halógeno, alquilamino, dialquilamino, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, nitrilo, sulfonamida, sulfamida o acil sulfonamida.

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales, tautómero(s), formas estereoisoméricas, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptables de los mismos tienen actividad como productos farmacéuticos, en particular como moduladores de Receptores tipo Toll 7 y 8 (especialmente TLR 8).

5 En otro aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal, tautómero, forma estereoisomérica, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

10 Asimismo, un compuesto de fórmula (I) o una sal, solvato, tautómero, forma estereoisomérica o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la presente invención, una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una sal, solvato, tautómero, forma estereoisomérica o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo pueden utilizarse como medicamento.

15 Otro aspecto de la invención es que un compuesto (I) o su sal, solvato, tautómero, forma estereoisomérica o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo, o dicha composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una sal, solvato, tautómero, forma estereoisomérica o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo pueden utilizarse por consiguiente en el tratamiento de un trastorno en el que está involucrada la modulación de TLR7 y/o TLR8, preferiblemente TLR8.

El término "alquilo (C₁₋₈)" y "alquilo (C₁₋₆)" se refiere a un hidrocarburo alifático saturado de cadena recta, cadena ramificada o cíclico que contiene el número específico de átomos de carbono.

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

20 El término "alquilarilo" se refiere a un hidrocarburo alifático saturado de cadena recta o cadena ramificada que contiene el número específico de átomos de carbono sustituidos por un arilo en donde "arilo" se define a continuación.

El término "alqueno" se refiere a un alquilo tal como se definió anteriormente que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un enlace doble carbono-carbono.

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

25 El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo (cadena de carbono e hidrógeno) singular unido a oxígeno como por ejemplo un grupo metoxi o un grupo etoxi.

El término "arilo" significa una estructura anular aromática que comprende opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados de N, O y S, en particular de 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.

30 El término "ariloxi" se refiere a una estructura anular aromática. Dicho grupo aromático está ligado singularmente a oxígeno.

35 Tal como se utiliza en la presente, cualquier fórmula química con enlaces que se muestran solo como líneas continuas y no como enlaces en forma de cuña continua o en forma de cuña discontinua, o que se indica de otro modo que tienen una configuración particular (por ejemplo, R, S) alrededor de uno o más átomos, contempla cada estereoisómero o mezcla de dos o más estereoisómeros posible.

Las expresiones "estereoisómeros", "formas estereoisoméricas" o "formas estereoquímicamente isoméricas" utilizadas anteriormente o a continuación en la presente se utilizan indistintamente.

La invención incluye todos los estereoisómeros de los compuestos de la invención, ya sea como un estereoisómero puro o como una mezcla de dos o más estereoisómeros.

40 Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes especulares entre sí que no se pueden superponer. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o mezcla racémica.

45 Los diastereómeros (o diastereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir, que no están relacionados como imágenes especulares. Si un compuesto contiene un doble enlace, los sustituyentes pueden estar en la configuración E o Z. Si un compuesto contiene al menos un grupo cíclico no aromático disustituido, los sustituyentes pueden estar en configuración cis o trans.

Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros, racematos, isómeros E, isómeros Z, isómeros cis, isómeros trans y mezclas de estos, siempre que sea químicamente posible.

Los expertos en la técnica estarán familiarizados con el significado de todos estos términos, es decir, enantiómeros, diastereoisómeros, racematos, isómeros E, isómeros Z, isómeros cis, isómeros trans y mezclas de estos.

La configuración absoluta se especifica de acuerdo con el sistema de Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un átomo asimétrico es especificada por R o S. Los estereoisómeros resueltos cuya configuración absoluta no se conoce pueden ser designados por medio de (+) o (-), dependiendo de la dirección en la que rotan la luz polarizada en el plano. Por ejemplo, los enantiómeros resueltos cuya configuración absoluta se desconoce se pueden designar como (+) o (-), dependiendo de la dirección en la que rotan la luz polarizada en el plano.

Quando se identifica un estereoisómero específico, esto quiere decir que dicho estereoisómero está sustancialmente exento, es decir, asociado con menos de un 50%, preferentemente menos de un 20%, más preferentemente menos de un 10%, aún más preferentemente menos de un 5%, en particular menos de un 2% y aún más preferentemente menos de un 1%, de los otros estereoisómeros. Por lo tanto, cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como (R), esto quiere decir que el compuesto está sustancialmente exento del isómero (S); cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como E, esto quiere decir que el compuesto está sustancialmente exento del isómero Z; cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como cis, esto quiere decir que el compuesto está sustancialmente exento del isómero trans.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen las sales de adición de ácido y de base de los mismos. Las sales de adición de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales no tóxicas. Las sales de base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas.

Los compuestos de la invención también pueden existir en formas no solvatadas y 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 del disolvente farmacéuticamente aceptables, 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 de cristal.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse como productos cristalinos o amorfos. Pueden obtenerse por ejemplo como tapone sólidos, polvos o películas mediante métodos tales como precipitación, cristalización, liofilización, secado por pulverización o secado evaporativo. Pueden administrarse solos o en combinación con uno o más otros compuestos de la invención o en combinación con uno o más otros fármacos. En general, se administrarán como una formulación en asociación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se utiliza en la presente para describir cualquier ingrediente que no sea los compuestos de la invención. La elección de excipiente depende en gran medida de factores tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente en la solubilidad y estabilidad, y la naturaleza de la forma de dosificación.

Los compuestos de la presente invención o cualquier subgrupo del mismo pueden formularse en varias formas farmacéuticas a efectos de administración. Como composiciones adecuadas, se pueden citar todas las composiciones empleadas normalmente para administrar fármacos por vía sistémica. Para preparar las composiciones farmacéuticas de la presente invención, una cantidad efectiva del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal de adición, como el ingrediente activo se combina mezclándose bien con un portador farmacéuticamente aceptable, pudiendo tomar dicho portador una gran variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para administración. Estas composiciones farmacéuticas son deseables en forma de dosificación unitaria adecuada, por ejemplo, para administración oral, rectal o administración percutánea. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, cualquiera de los medios farmacéuticos habituales pueden utilizarse, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas 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, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan las formas unitarias de dosificación oral más ventajosas, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. También se incluyen preparaciones en forma sólida que pueden convertirse, 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, opcionalmente combinados 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, por ejemplo, como un parche transdérmico, como una unión dorsal puntual o como una pomada. Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse por inhalación o insuflación mediante los métodos y formulaciones empleadas en la técnica para administración de esta forma. De esta forma, en general los compuestos de la presente invención pueden administrarse a los pulmones en forma de una solución, una suspensión o un polvo seco.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en formas de dosificación unitarias para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. La expresión "forma farmacéutica unitaria", tal como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, asociada con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas de dosificación

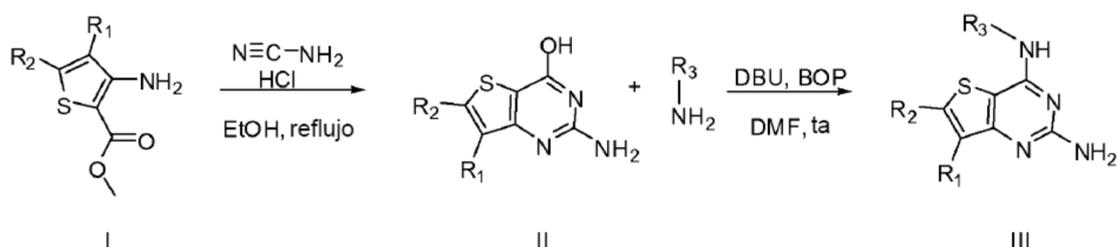
unitaria son comprimidos (incluidos comprimidos marcados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, supositorios, soluciones o suspensiones inyectables y similares, y múltiples segregados de los mismos.

Los expertos en el tratamiento de enfermedades infecciosas podrán determinar la cantidad efectiva a partir de los resultados de la prueba presentados a continuación. En general se contempla que una cantidad efectiva diaria sería de 0.01 mg/kg a 50 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente de 0.1 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis necesaria como dos, tres, cuatro o más subdosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas subdosis pueden formularse como formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen 1 a 1000 mg, y en particular 5 a 200 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

La dosis y frecuencia de administración exacta dependen del compuesto particular de fórmula (I) utilizado, la condición particular que se trata, la gravedad de la afección que se trata, la edad, el peso y la condición física general del paciente particular así como otra medicación que la persona pueda estar tomando, tal como lo saben 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. Los rangos de cantidad efectiva mencionados anteriormente por lo tanto son solo lineamientos y no pretenden limitar el alcance o uso de la invención en ninguna medida.

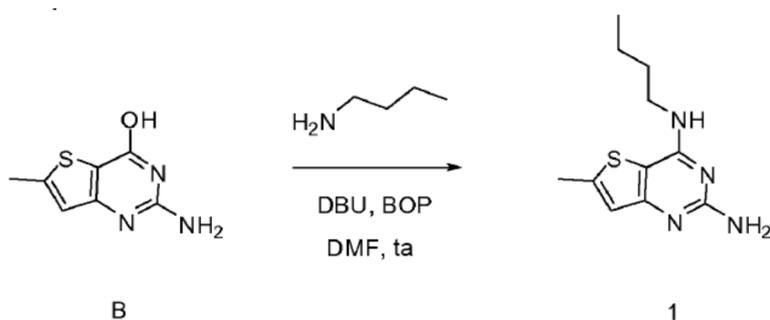
Preparación de los compuestos de fórmula (I)

Esquema general.



La preparación de compuestos de tipo I se describe en la literatura (Synthetic Communications, 9(8), p731-4, 1979; Synthetic Communications, 32(16), 2565-2568; 2002). Los 3-aminotiofenp-2-carboxilatos se mezclan con cianamida en un disolvente polar (por ejemplo, etanol) que contiene ácido (por ejemplo, HCl) para formar intermediarios II con calor tal como se describe en la literatura (Synthesis, (9), p 1428, 2010). El intermediario II en un disolvente polar aprótico puede mezclarse con BOP o PyBOP en combinación con una base (por ejemplo, DBU) y la amina para conducir a la formulación de productos finales (III) a temperatura ambiente. Alternativamente, el alcohol en los intermediarios de tipo II puede convertirse en cloro utilizando los métodos descritos y los agentes de cloración, tal como POCl_3 , a menudo con calor y en presencia de disolvente, y opcionalmente con base. Después de la aislación, el intermediario 4-cloro puede utilizarse entonces para formar productos de tipo III mediante calentamiento con la amina en base disolvente y polar (por ejemplo, acetonitrilo).

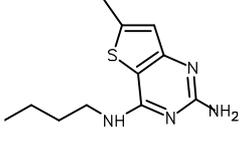
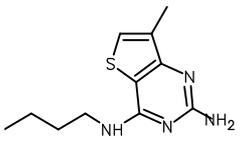
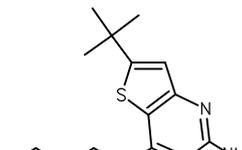
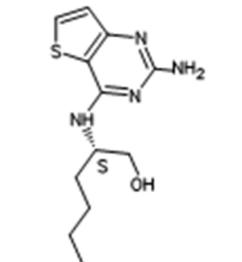
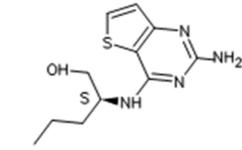
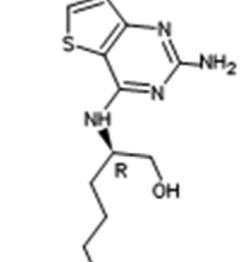
Preparación de 1

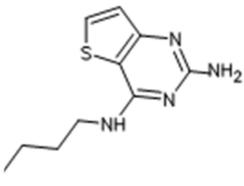
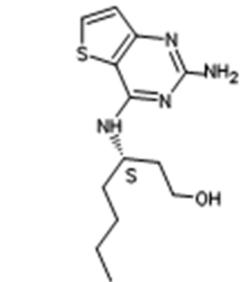
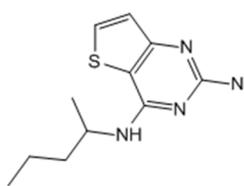
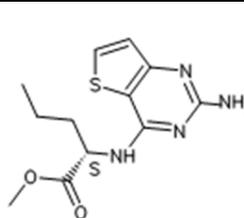
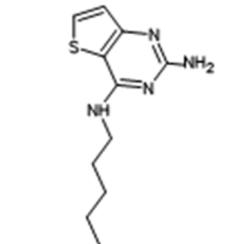
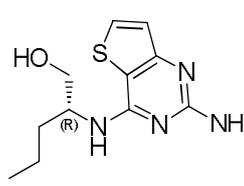


Se colocó en un vial de vidrio de 50 mL B (500 mg, 2.76 mmol), DMF anhidro (5 mL), DBU (1.26 g, 8.28 mmol), *n*-butilamina (605 mg, 8.3 mmol) y BOP (1.46 g, 3.31 mmol). El vial se selló y se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La LC-MS demostró la conversión en el producto. La mezcla de reacción bruta se purificó mediante HPLC preparatoria (RP SunFire Prep C18 OBD-10 μm , 30 x 150 mm, fase móvil 0.25% de carbonato de amonio acuoso a acetónitrilo). Las mejores fracciones se agruparon y los disolventes se retiraron a presión reducida para proporcionar un sólido blanco, 1. LC-MS m/z = 237 (M+H).

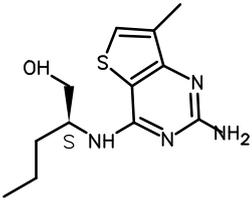
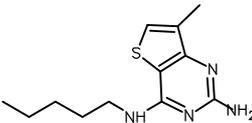
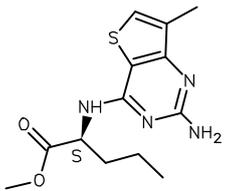
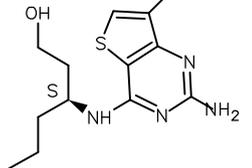
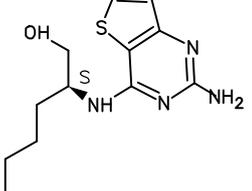
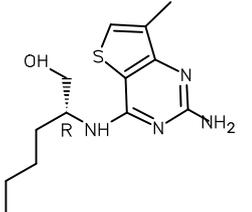
Tabla 1. Compuestos de fórmula (I) y datos analíticos correspondientes. Los compuestos se prepararon de acuerdo con los métodos descritos en la sección experimental.

ES 2 701 239 T3

#	ESTRUCTURA	¹ H RMN	Método LC, Ta (min)	Masa de LC-MS encontrada (M+H)
1		¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.91 (t, J=7.4 Hz, 3 H), 1.33 (dc, J=14.9, 7.4 Hz, 2 H), 1.49 - 1.61 (m, 2 H), 3.35 (s, 3 H), 3.36 - 3.42 (m, 2 H), 5.74 (s, 2 H), 6.69 (s, 1 H), 7.03 (t, J=5.5 Hz, 1 H)	A, 0.8	237
2		¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.91 (t, J=7.4 Hz, 3 H), 1.26 - 1.42 (m, 2 H), 1.48 - 1.62 (m, 2 H), 2.17 (d, J=1.1 Hz, 3 H), 3.37 - 3.46 (m, 2 H), 5.83 (s, 2 H), 7.14 (s, 1 H), 7.43 (d, J=1.1 Hz, 1 H)	B, 1.52	237
3		¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.90 (t, J=7.4 Hz, 3 H), 1.27 - 1.35 (m, 2 H), 1.36 (s, 9 H), 1.47 - 1.60 (m, 2 H), 3.35 - 3.43 (m, 2 H), 5.72 (s, 2 H), 6.73 (s, 1 H), 7.04 (t, J=5.5 Hz, 1 H)	B, 1.83	279
4		¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.85 (s a, 3 H), 1.17 - 1.39 (m, 4 H), 1.43 - 1.56 (m, 1 H), 1.65 (s a, 1 H), 3.39 - 3.54 (m, 2 H), 4.26 (d, J=4.4 Hz, 1 H), 4.65 (s a, 1 H), 5.75 (s, 2 H), 6.84 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 6.95 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 7.81 (d, J=5.3 Hz, 1 H)	A, 0.70	267
5		¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.78 - 0.94 (m, 3 H), 1.16 - 1.41 (m, 2 H), 1.45 - 1.69 (m, 2 H), 3.47 - 3.53 (m, 1 H), 4.30 - 4.47 (m, 2 H), 7.18 - 7.28 (m, 1 H), 7.77 (s a, 2 H), 8.18 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 8.92 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 13.26 (s a, 1 H)	A, 0.63	253
6		¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.84 (s a, 3 H), 1.19 - 1.39 (m, 4 H), 1.42 - 1.57 (m, 1 H), 1.65 (s a, 1 H), 3.37 - 3.55 (m, 2 H), 3.71 - 4.21 (m, 1 H), 4.28 (d, J=4.6 Hz, 1 H), 5.97 (s a, 2 H), 6.97 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 7.05 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 7.84 (d, J=5.3 Hz, 1 H)	A, 0.70	267

#	ESTRUCTURA	¹ H RMN	Método LC, Ta (min)	Masa de LC-MS encontrada (M+H)
7		¹ H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 0.98 (t, J=7.4 Hz, 3 H), 1.39 - 1.51 (m, 2 H), 1.61 - 1.69 (m, 2 H), 1.74 (s, 1 H), 3.59 (td, J=7.2, 5.7 Hz, 2 H), 4.71 (s a, 2 H), 7.11 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 7.56 (d, J=5.3 Hz, 1 H)	B, 0.71	223
8		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.81 - 0.93 (m, 3 H), 1.20 - 1.40 (m, 4 H), 1.52 - 1.65 (m, 2 H), 1.74 (c, J=6.6 Hz, 2 H), 3.40 - 3.50 (m, 2 H), 4.38 - 4.52 (m, 2 H), 7.22 (d, J=5.5 Hz, 1 H), 7.63 - 7.82 (m, 2 H), 8.18 (d, J=5.5 Hz, 1 H), 8.82 (d, J=8.4 Hz, 1 H)	A, 0.76	281
9		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.89 (t, J=7.3 Hz, 3 H), 1.16 (d, J=6.6 Hz, 3 H), 1.26 - 1.38 (m, 2 H), 1.39 - 1.51 (m, 1 H), 1.53 - 1.64 (m, 1 H), 4.28 - 4.39 (m, 1 H), 5.77 (s, 2 H), 6.95 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 7.01 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 7.81 (d, J=5.3 Hz, 1 H)	A, 0.82	237
10		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.84 - 0.98 (m, 3 H), 1.27 - 1.51 (m, 2 H), 1.57 - 1.70 (m, 1 H), 1.80 - 1.98 (m, 1 H), 3.69 (s, 3 H), 4.76 - 4.92 (m, 1 H), 7.27 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 7.89 (s a, 2 H), 8.26 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 9.47 (d, J=7.3 Hz, 1 H)	A, 0.76	281
11		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.87 (t, J=6.9 Hz, 3 H), 1.25 - 1.37 (m, 4 H), 1.57 (s a, 2 H), 3.39 - 3.44 (m, 2 H), 5.80 (s, 2 H), 6.95 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 7.25 (s, 1 H), 7.80 (d, J=5.3 Hz, 1 H)	A, 0.84	237
12		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.88 (t, J=7.3 Hz, 3 H), 1.21 - 1.43 (m, 2 H), 1.50 (dtd, J=13.5, 9.0, 9.0, 5.0 Hz, 1 H), 1.57 - 1.69 (m, 1 H), 3.38 - 3.53 (m, 2 H), 4.29 (d, J=4.6 Hz, 1 H), 4.62 (s a, 1 H), 5.80 (s, 2 H), 6.87 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 6.96 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 7.82 (d, J=5.3 Hz, 1 H)	A, 0.61	253.1

ES 2 701 239 T3

#	ESTRUCTURA	¹ H RMN	Método LC, Ta (min)	Masa de LC-MS encontrada (M+H)
13		¹ H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 0.95 (t, J=7.3 Hz, 3 H), 1.32 - 1.50 (m, 2 H), 1.51 - 1.71 (m, 2 H), 2.31 (d, J=1.1 Hz, 3 H), 3.34 (s, 1 H), 3.67 (dd, J=11.0, 6.4 Hz, 1 H), 3.83 (dd, J=11.0, 3.3 Hz, 1 H), 4.19 - 4.38 (m, 1 H), 4.77 (d, J=7.3 Hz, 1 H), 4.87 (s, 2 H), 7.19 (d, J=1.1 Hz, 1 H)	A, 0.67	267.1
14		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.80 - 0.94 (m, 3 H), 1.20 - 1.39 (m, 4 H), 1.49 - 1.64 (m, 2 H), 2.17 (d, J=1.1 Hz, 3 H), 3.36 - 3.43 (m, 2 H), 5.82 (s, 2 H), 7.15 (t, J=5.5 Hz, 1 H), 7.43 (d, J=1.1 Hz, 1 H)	B, 1.69	251.0
15		¹ H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 0.96 (t, J=7.4 Hz, 3 H), 1.22 - 1.33 (m, 1 H), 1.35 - 1.52 (m, 1 H), 1.74 - 1.86 (m, 1 H), 1.87 - 2.01 (m, 1 H), 2.33 (d, J=1.1 Hz, 3 H), 3.76 (s, 3 H), 4.75 (s a, 2 H), 4.97 (td, J=7.5, 5.6 Hz, 1 H), 5.10 (d, J=7.7 Hz, 1 H), 7.22 (d, J=1.1 Hz, 1 H)	E, 1.02	295.2
16		¹ H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 0.92 (t, J=7.4 Hz, 3 H), 1.26 - 1.50 (m, 3 H), 1.51 - 1.66 (m, 2 H), 1.68 - 1.79 (m, 1 H), 1.86 - 2.03 (m, 1 H), 2.32 (d, J=1.1 Hz, 3 H), 3.45 - 3.68 (m, 2 H), 4.41 (ddd, J=11.1, 5.4, 2.9 Hz, 1 H), 4.52 (d, J=8.8 Hz, 1 H), 4.97 (s, 2 H), 7.20 (d, J=1.1 Hz, 1 H)	A, 0.72	281.2
17			B, 1.38	281.1
18		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.85 (t, J=6.5 Hz, 3 H), 1.11 - 1.35 (m, 4 H), 1.38 - 1.56 (m, 1 H), 1.57 - 1.74 (m, 1 H), 2.18 (d, J=0.9 Hz, 3 H), 3.39 - 3.55 (m, 2 H), 4.19 - 4.35 (m, 1 H), 4.66 (s a, 1 H), 5.79 (s, 2 H), 6.75 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 7.44 (d, J=1.1 Hz, 1 H)	B, 1.41	281.1

#	ESTRUCTURA	¹ H RMN	Método LC, Ta (min)	Masa de LC-MS encontrada (M+H)
19		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.76 - 0.91 (m, 3 H), 1.16 - 1.36 (m, 4 H), 1.44 - 1.58 (m, 2 H), 1.59 - 1.79 (m, 2 H), 2.17 (d, <i>J</i> =1.1 Hz, 3 H), 3.38 - 3.49 (m, 2 H), 4.34 (d, <i>J</i> =7.5 Hz, 1 H), 4.40 (t, <i>J</i> =5.4 Hz, 1 H), 5.83 (s, 2 H), 6.87 (d, <i>J</i> =8.6 Hz, 1 H), 7.44 (d, <i>J</i> =1.1 Hz, 1 H)	B, 1.49	295.1
20		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.88 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.18 (d, <i>J</i> =6.5 Hz, 3 H), 1.23 - 1.38 (m, 2 H), 1.40 - 1.69 (m, 2 H), 2.58 (s, 3 H), 4.25 - 4.45 (m, 1 H), 6.93 (s, 1 H), 7.50 (s a, 2 H), 8.50 (s a, 1 H)	B, 1.66	251.1
21		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) □ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 3 H), 1.17 - 1.40 (m, 4 H), 1.43 - 1.71 (m, 2 H), 2.59 (s, 3 H), 3.45 - 3.50 (m, 2 H), 4.20 - 4.41 (m, 1 H), 6.99 (d, <i>J</i> =0.8 Hz, 1 H), 7.66 (s a, 2 H), 8.71 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 13.00 (s a, 1 H)	D, 2.49	281.1
22		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.7 Hz, 3 H), 1.08 - 1.38 (m, 4 H), 1.43 - 1.71 (m, 2 H), 2.52 (s a, 2 H), 2.57 (m, <i>J</i> =1.0 Hz, 3 H), 4.29 (d, <i>J</i> =5.0 Hz, 1 H), 4.82 (s a, 1 H), 6.92 (d, <i>J</i> =1.3 Hz, 1 H), 7.20 (s a, 2 H), 8.22 (s a, 1 H)	D, 2.67	281.1
23		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.8 Hz, 3 H), 1.16 - 1.35 (m, 4 H), 1.40 (s, 9 H), 1.51 (dd, <i>J</i> =9.0, 4.8 Hz, 1 H), 1.64 (d, <i>J</i> =6.0 Hz, 1 H), 3.47 (s a, 2 H), 4.33 (d, <i>J</i> =4.8 Hz, 1 H), 4.83 (s a, 1 H), 7.00 (s, 1 H), 7.67 (s a, 2 H), 8.66 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H)	C, 2.67	323.1

Métodos analíticos

5

Información general: la medición de LC se realizó utilizando un sistema Acquity UPLC (Waters) que comprende una bomba binaria, un organizador de muestras, un calentador de columna (fijado en 55 °C), un detector de arreglo de diodos (DAD) y una columna tal como se especifica en los métodos respectivos a continuación. El flujo procedente de la columna se desvió a un espectrómetro MS. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización por electropulverización. Los espectros de masa se adquirieron mediante escaneo de 100 a 1000 en 0.18 segundos utilizando un tiempo de toma de muestra de 0.02 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3.5 kV y la temperatura fuente se mantuvo a 140°C. Se utilizó nitrógeno como el gas nebulizador.

Métodos LC-MS.

Código del método LC-MS	Columna	Fase móvil	Gradiente	Flujo (mL/min.)/Temp (°C)	Tiempo de pasada (min.)
A	Waters: BEH C18 (1.7µm, 2.1 x 50mm)	A: 10mM CH ₃ COONH ₄ en 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	De 95% A a 5% A en 1.3 min., mantenido durante 0.7 min.	0.8/55	2
B	Waters : HSS T3 (1.8µm, 2.1 x 100mm)	A: 10mM CH ₃ COONH ₄ en 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	De 100% A a 5% A en 2.10 min., a 0% A en 0.90 min., a 5% A en 0.5 min.	0.8/55	3.5
C	Agilent: TC-C18 (5µm, 2.1x50mm)	A: CF ₃ COOH 0.1% en agua, B: CF ₃ COOH 0.05% en CH ₃ CN	100% A durante 1min., a 40% A en 4min., a 15% A en 2.5min., a 100% A en 2min.	0.8/50	10.5
D	Agilent: TC-C18 (5µm, 2.1x50mm)	A: CF ₃ COOH 0.1% en agua, B: CF ₃ COOH 0.05% en CH ₃ CN	90% A durante 0.8min., a 20% A en 3.7min., mantenido durante 3min., de vuelta a 90% A en 2min.	0.8/50	10.5
E	Waters: BEH C18 (1.7µm, 2.1*50mm)	A: 10mM CH ₃ COONH ₄ en 90% H ₂ O + 10% CH ₃ CN B: MeOH	De 95% A a 5% A en 1.3 min., mantenido durante 0.2 min., a 95% A en 0.2 min. mantenido durante 0.1 min.	0.7/70	1.8

Actividad biológica de los compuestos de fórmula (I)

Descripción de ensayos biológicos

Evaluación de la actividad de TLR7 y TLR8

5 La capacidad de los compuestos de activar el TLR7 y/o TLR8 humano se evaluó en una ensayo de reportero celular utilizando células HEK293 transitoriamente transfectadas con un vector de expresión de TLR7 o TLR8 y el constructo del reportero NFκB-luc.

10 En resumen, las células HEK293 se cultivaron en medio de cultivo (DMEM complementado con 10% de FCS y 2 mM de Glutamina). Para transfección de las células en placas de 15 cm, las células se separaron con Tripsina-EDTA, se transfectaron con una mezcla de plásmido CMV-TLR7 o TLR8 (1700 ng), plásmido NFκB-luc (850 ng) y un reactivo de transfección y se incubaron durante 48 h a 37°C en una atmósfera humidificada de 5% de CO₂. Las células transfectadas se lavaron luego en PBS, se separaron con Tripsina-EDTA y se resuspendieron en un medio a una densidad de 1.25 x 10⁵ células/mL. Cuarenta microlitros de células se dispensaron luego en cada pocillo en placas de 384 pocillos, donde 200 nL de compuesto en 100% de DMSO ya estaban presentes. Tras 6 horas de incubación a 37°C, 5% de CO₂, se determinó la actividad de luciferasa agregando 15 µL de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) a cada pocillo y se realizó una lectura en una cámara de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Las curvas de respuesta a la dosis se generaron a partir de mediciones realizadas por cuadruplicado. Los valores de las concentraciones efectivas más bajas (LEC), definidas como la concentración que induce el efecto que es al menos dos veces por encima de la desviación estándar del ensayo, se determinaron para cada compuesto.

20 La toxicidad del compuesto se determinó en paralelo utilizando una serie de dilución similar del compuesto con 40 µL por pocillo de células transfectadas con el constructo CMV-TLR7 solo (1.25 x 10⁵ células/mL), en placas de 384 pocillos. Se midió la viabilidad celular después de 6 horas de incubación a 37°C, 5% de CO₂ agregando 15 µL de

ATP lite (Perkin Elmer) por pocillo y con lectura en una cámara de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Los datos se indican como CC₅₀.

5 En paralelo, se utilizó una serie de dilución similar del compuesto (200 nL del compuesto en 100% de DMSO) con 40 µL por pocillo de células transfectadas con el constructo del reportero NFκB-luc solo (1.25 x 10⁵ células/mL). Seis horas después de la incubación a 37°C, 5% de CO₂, se determinó la actividad de luciferasa agregando 15 µL de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) a cada pocillo y se realizó una lectura en una cámara de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Los datos de selección inversa se indican como LEC.

Activación de elementos promotores de ISRE

10 El potencial de los compuestos de inducir IFN-I también se evaluó midiendo la activación de elementos de respuesta estimulados por interferones (ISRE) por medios acondicionados a partir de PBMC. El elemento ISRE de la secuencia GAAACTGAAACT responde bien al factor de transcripción STAT1-STAT2-IRF9, activado tras la unión de IFN-I a su receptor IFNAR (Clontech, PT3372-5W). El plásmido pISRE-Luc de Clontech (ref. 631913) contiene 5 copias de este elemento ISRE, seguido por el ORF de luciferasa de luciérnaga. La línea celular de HEK293 establemente transfectada con pISRE-Luc (HEK-ISREluc) se estableció para perfilar los medios de cultivo celular PBMC acondicionados.

15 En resumen, se prepararon PBMC a partir de capas leucocitarias de al menos dos donantes utilizando un protocolo de centrifugación Ficoll. Las PBMC aisladas se resuspendieron en medio de RPMI complementado con 10% de suero AB humano y 2 x 10⁵ células/pocillo se dispensaron en placas de 384 pocillos que contenían compuestos (70 µL de volumen total). Después de la incubación durante la noche, 10 µL de sobrenadante se transfirió a placas de 384 pocillos que contienen 5 x 10³ de células HEK-ISREluc/pocillo en 30 µL (colocadas en placas el día antes). Tras 24 horas de incubación, la activación de los elementos ISRE se midió mediante ensayo de actividad de luciferasa utilizando 40 µL/pocillo de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) y se midió con la cámara de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). La actividad de estimulación de cada compuesto en las células HEK-ISREluc se informó como valor LEC, definido como la concentración de compuesto aplicada a las PBMC resultando en una actividad de luciferasa al menos dos veces por encima de la desviación estándar del ensayo. El LEC a su vez indica el grado de activación de ISRE en transferencia de una cantidad definida de medio de cultivo de PBMC. Se utilizó el interferón α-2a recombinante (Roferon-A) como compuesto testigo estándar.

Tabla 2. Actividad biológica de los compuestos de fórmula (I)

#	TLR 7 humano (LEC) µM	TLR 8 humano (LEC) µM	HEK-ISRE luc (LEC) µM
1	1.0	0.5	0.1
2	2.2	1.0	0.6
3	1.2	1.2	0.4
4	0.5	0.03	0.04
5	2.7	0.2	0.4
6	>25	0.5	0.6
7	1.1	0.7	0.3
8	1.2	0.7	0.3
9	3.3	2.5	3.8
10	6.1	2.7	0.8
11	2.1	3.9	1.2
12	>25	7.2	21
13	12	0.2	0.6
14	6.8	1.9	3.2
15	>25	3.5	2.6

ES 2 701 239 T3

#	TLR 7 humano (LEC) μM	TLR 8 humano (LEC) μM	HEK-ISRE luc (LEC) μM
16	5.2	1.6	0.7
17	3.7	0.3	0.4
18	>25	0.8	1.7
19	3.9	1.6	0.6
20	>25	6.9	10.1
21	10.4	0.6	-
22	2.9	0.2	-
23	2.7	2.6	-

Ninguno de los compuestos mostró actividad (LEC >25 μM) en el ensayo de selección inversa de HEK 293 NF-kB descrito anteriormente.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Janssen R&D Ireland

5 <120> DERIVADOS DE TIENO[3,2-*d*]PIRIMIDINAS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES VIRALES

<140> EPPCT/EP2014/066219
<141> 2014-07-29

10 <150> EP13178534.7
<151> 2013-07-30

<160> 1

15 <170> BiSSAP 1.2

<210> 1
<211> 12
<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<222> 1..12

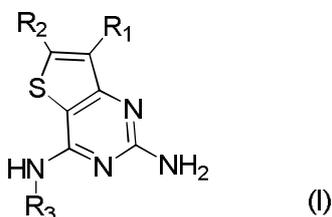
25 <223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="Elementos de respuesta estimulados por interferones"
/tipo_mol="ADN sin asignación"

<400> 1
gaaactgaaa ct 12

30

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



5 o una sal, tautómero(s), forma estereoisomérica, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R₁ se selecciona de hidrógeno, halógeno, -CH₃ o -CF₃,

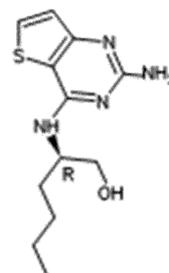
R₂ se selecciona de hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆,

10 R₃ es alquilo C₁₋₈ opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de arilo, ariloxi, halógeno, hidroxilo, alquilamino, dialquilamino, alquenilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, nitrilo, sulfonamida, sulfamida, acil sulfonamida, o

R₃ es un alquilarilo opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de arilo, ariloxi, halógeno, alquilamino, dialquilamino, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, nitrilo, sulfonamida, sulfamida o acil sulfonamida.

15 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₁ y R₂ son ambos hidrógeno y en donde R₃ es alquilo C₁₋₈ sustituido por hidroxilo.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 que tiene la estructura



4. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal, tautómero(s), formas estereoisoméricas, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptables del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 junto con uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

20 5. Un compuesto de fórmula (I) o una sal, tautómero(s), formas estereoisoméricas, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptables del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 para utilizar como medicamento.

25 6. Un compuesto de fórmula (I) o una sal, tautómero(s), formas estereoisoméricas, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 para utilizar en el tratamiento de un trastorno en el que está implicada la modulación de TLR7 y/o TLR8, preferiblemente TLR8.