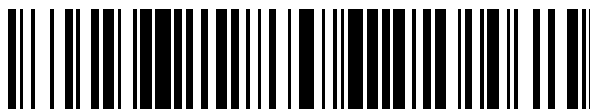


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 707 885**

51 Int. Cl.:

C07D 239/48 (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01)
C07D 409/06 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.08.2013** **PCT/EP2013/066673**
87 Fecha y número de publicación internacional: **13.02.2014** **WO14023813**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.08.2013** **E 13748289 (9)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2018** **EP 2882721**

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

30 Prioridad:

10.08.2012 EP 12180167

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.04.2019

73 Titular/es:

**JANSSEN SCIENCES IRELAND UNLIMITED
COMPANY (100.0%)
Barnahely, Ringaskiddy
Co Cork, IE**

72 Inventor/es:

**MC GOWAN, DAVID, CRAIG;
JONCKERS, TIM, HUGO, MARIA y
RABOISSON, PIERRE, JEAN-MARIE, BERNARD**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 707 885 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

Alquilpirimidinderivados para el tratamiento de infecciones víricas y otras enfermedades

Esta invención se refiere a alquilpirimidinderivados para uso en el tratamiento y/o la terapia de enfermedades.

La presente invención se refiere a alquilpirimidinderivados para uso en el tratamiento de infecciones víricas, trastornos inmunitarios o inflamatorios, por lo cual está implicada la modulación, o el agonismo, de los receptores tipo Toll (los TLR, por sus siglas en inglés). Los receptores tipo Toll son proteínas transmembranales primarias caracterizadas por un dominio extracelular rico en leucina y una extensión citoplásmica que contiene una región conservada. El sistema inmunitario innato puede reconocer patrones moleculares asociados a patógenos mediante estos TLR expresados en la superficie celular de ciertos tipos de células inmunitarias. El reconocimiento de patógenos extraños activa la producción de citocinas y la regulación por incremento de moléculas coestimulantes en los fagocitos. Esto conduce a la modulación del comportamiento de las células T.

Una mayoría de especies de mamíferos tiene entre diez y quince tipos de receptores de tipo Toll. Se han identificado trece TLR (denominados simplemente TLR1 a TLR13) en seres humanos y ratones, y se han encontrado formas equivalentes de muchos de estos en otras especies de mamíferos. Sin embargo, los equivalentes de algunos TLR encontrados en seres humanos no están presentes en todos los mamíferos. Por ejemplo, hay en ratones un gen que codifica una proteína análoga a TLR10 en seres humanos, pero parece que haya sido dañado en algún momento en el pasado por un retrovirus. Por otra parte, los ratones expresan los TLR 11, 12 y 13, ninguno de los cuales está representado en seres humanos. Otros mamíferos pueden expresar los TLR que no se encuentran en seres humanos. Otras especies no de mamíferos pueden presentar TLR distintos de en mamíferos, como se demuestra por TLR14, que se encuentra en el pez globo *Takifugu*. Esto puede complicar el procedimiento de usar animales experimentales como modelos de inmunidad innata humana.

Para revisiones sobre los receptores tipo Toll, véanse los siguientes artículos de revistas. Hoffmann, J. A., *Nature*, 426, pp. 33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K. y Kaisho, T., *Annual Rev. Immunology*, 21, pp. 335-376, 2003; Ulevitch, R. J., *Nature Reviews: Immunology*, 4, pp. 512-520, 2004.

Se han descrito previamente compuestos que indican actividad sobre los receptores tipo Toll, tales como derivados heterocíclicos en la patente internacional WO2000006577, derivados de adenina en la patente internacional WO 98/01448 y WO 99/28321 y pirimidinas en la patente internacional WO 2009/067081.

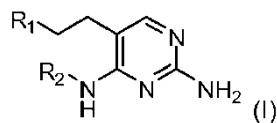
La patente europea EP 1110951 se refiere a pirimidinderivados que tienen una actividad inhibidora de las citocinas tipo Th2. Se hace referencia al uso de los mismos como agente terapéutico para enfermedades alérgicas, enfermedades autoinmunitarias y el sida.

En el tratamiento de ciertas infecciones víricas, se pueden administrar inyecciones regulares de interferón (IFN α), como es el caso para el virus de la hepatitis C (VHC), (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 de moléculas pequeñas disponibles por vía oral ofrecen las potenciales ventajas de inmunogenicidad reducida y conveniencia de administración. Así, los nuevos inductores de IFN son una nueva clase de fármacos potencialmente eficaz para tratar infecciones víricas. Para un ejemplo en la bibliografía de un inductor de IFN de moléculas pequeñas con efecto antivírico, véase De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P. *Science* 1978, 200, 563-565.

El interferón $\bullet$ también se da junto con otros fármacos en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer (*Eur. J. Cancer* 46, 2849-57 y *Cancer Res.* 1992, 52, 1056). Los agonistas de TLR 7/8 también tienen interés como adyuvantes de vacunas debido a su capacidad para inducir una respuesta Th1 pronunciada (*Hum. Vaccines* 2010, 6, 1-14 y *Hum. Vaccines* 2009, 5, 381-394).

Sin embargo, existe una gran necesidad de nuevos moduladores de receptores tipo Toll que tengan una selectividad preferida y un perfil de seguridad mejorado comparado con los compuestos de la técnica anterior.

Según la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I):



o una sal, un solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R₁ es hidrógeno, heterociclo C₄₋₇, arilo o heterociclo bicíclico, cada uno de los cuales está opcionalmente

sustituido por uno o más alcoxi C₁₋₆,

R₂ es alquilo C₁₋₆,

con la condición de que se excluya la N-(2-amino-5-fenetilpirimidin-4-il)-N-pentilamina, para uso en el tratamiento de un trastorno en el que esté implicada la modulación de TLR 7 y/o la modulación de TLR8 para tratar infecciones víricas.

Los compuestos de fórmula (I) y su sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de los mismos tienen actividad como moduladores de la actividad de los receptores tipo Toll (especialmente TLR7 y/o TLR8).

El uso anterior puede implicar una composición farmacéutica que comprenda un compuesto de fórmula (I) o una sal, un solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con uno o más excipientes, diluyentes o portadores, farmacéuticamente aceptables.

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 «alcoxi» se refiere a un grupo alquilo (cadena de carbono e hidrógeno) singular unido a oxígeno como, por ejemplo, un grupo metoxi o grupo etoxi.

El término «arilo» significa una estructura de anillo aromático que comprende opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados de N, O y S, en particular de N y O. Dicha estructura de anillo aromático puede tener 5, 6 o 7 átomos de anillo. En particular, dicha estructura de anillo aromático puede tener 5 o 6 átomos de anillo.

El término «heterociclo bicíclico» significa una estructura de anillo aromático, como se define por el término «arilo» comprendida por dos anillos aromáticos condensados. Cada anillo está comprendido opcionalmente por heteroátomos seleccionados de N, O y S, en particular de N y O.

«Heterociclo» se refiere a moléculas que son saturadas o parcialmente saturadas e incluyen, tetrahidrofurano, dioxano u otros éteres cíclicos, pero no se limita a estos. Los heterociclos que contienen nitrógeno incluyen, por ejemplo, azetidina, morfolina, piperidina, piperazina, pirrolidina y similares. Otros heterociclos incluyen, por ejemplo, tiomorfolina, morfolina y sulfonas cíclicas.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen sus sales de adición de ácido y sus sales alcalinas. Las sales de adición de ácido adecuadas están formadas por ácidos que forman sales no tóxicas. Las sales alcalinas adecuadas están formadas por bases que forman sales no tóxicas.

Los compuestos para uso según la invención también pueden existir en formas solvatadas y no solvatadas. El término «solvato» se usa en la presente memoria para describir un complejo molecular que comprende el compuesto para uso según la invención y una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, etanol.

El término «polimorfo» se refiere a la capacidad del compuesto para uso según la invención para existir en más de una forma o estructura cristalina.

Los compuestos para uso según la presente invención pueden administrarse como productos cristalinos o amorfos. Pueden obtenerse, por ejemplo, como tapones sólidos, polvos o películas por métodos tales como precipitación, cristalización, liofilización, secado por pulverización o secado evaporativo. Pueden administrarse solos o junto con otro u otros compuestos más para uso según la invención o junto con otro u otros fármacos más. En general, se administrarán como una formulación junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término «excipiente» se usa en la presente memoria para describir cualquier ingrediente distinto del compuesto o de los compuestos para uso según la invención. La elección de excipiente depende mucho de factores tales como el modo de administración particular, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y la estabilidad y la naturaleza de la forma de dosificación.

Los compuestos para uso según la presente invención o cualquier subgrupo de los mismos pueden formularse en varias formas farmacéuticas para fines de administración. Como composiciones apropiadas pueden citarse todas las composiciones empleadas normalmente para la administración de fármacos por vía sistémica. Para preparar las composiciones farmacéuticas para uso según esta invención, se combina una cantidad eficaz del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal de adición, como el principio activo, en mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, portador que puede tomar muchas diversas formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Es deseable que estas composiciones farmacéuticas estén en forma de dosificación unitaria adecuada, por ejemplo, para administración oral, rectal o percutánea. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos normales 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 disgregantes y similares, en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las 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 administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente que mejore la penetración y/o un agente humectante adecuado, combinado opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, aditivos que no introducen un efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser de ayuda para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones pueden administrarse de diversas formas, por ejemplo, como un parche transdérmico, como un producto de aplicación tópica, como un ungüento. Los compuestos para uso según la presente invención también pueden administrarse por inhalación o insuflación mediante métodos y formulaciones empleados en la técnica para administración de esta manera. Así, en general, los compuestos para uso según la presente invención pueden administrarse a los pulmones en la forma de una solución, una suspensión o un polvo seco.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas en forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma de dosificación unitaria, como se usa en la presente memoria, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. Los ejemplos de tales formas de dosificación unitaria son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, sobrecitos, 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 eficaz de los resultados del examen presentados de ahora en adelante. En general, se considera que una cantidad diaria eficaz 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 requerida como dos, tres, cuatro o más subdosis en intervalos apropiados durante el día. Dichas subdosis pueden formularse como formas de dosificación unitarias, por ejemplo, conteniendo de 1 mg a 1000 mg y en particular de 5 mg a 200 mg de principio activo por forma de dosificación unitaria.

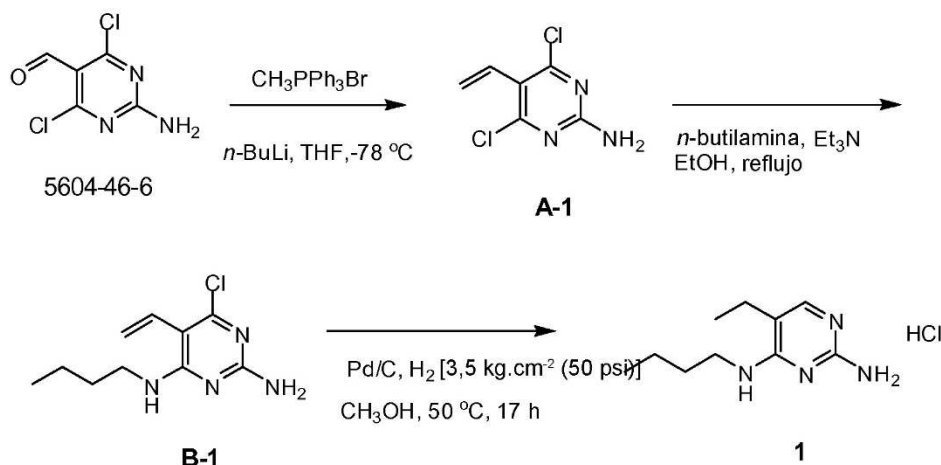
La dosis y la frecuencia exactas de administración dependen del compuesto particular de fórmula (I) usado, la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso y el estado físico general del paciente particular así como otra medicación que esté tomando el individuo, como conocen los expertos en la materia. Además, es evidente que la cantidad eficaz puede disminuirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del individuo tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos para uso según la invención inmediata. Los rangos de cantidad eficaces mencionados anteriormente son, por lo tanto, solo directrices y no se pretende que limiten el alcance o el uso de la invención en ningún grado.

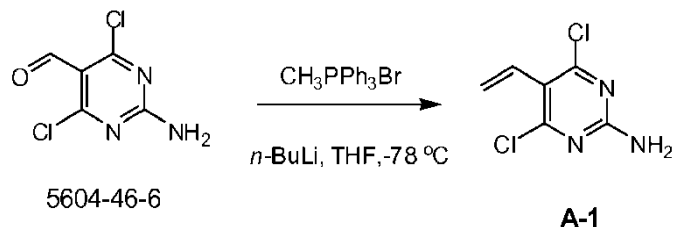
Preparación de compuestos

Los compuestos de fórmula (I) se preparan según el **esquema 1**.

Preparación del ejemplo 1

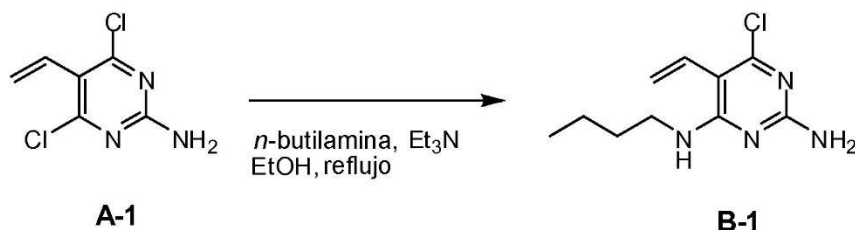
Esquema 1:



Síntesis de **A-1**

Se suspendió $\text{CH}_3\text{PPh}_3\text{Br}$ (27,91 g, 78,1 mmol, 1,5 eq.) en THF (70 ml) y se agitó a -78°C en atmósfera de N_2 . Se añadió gota a gota *n*-butillitio (30 ml, 75 mmol, 1,44 eq., 2,5 M en hexano) durante 20 minutos y se agitó durante unas 0,5 horas adicionales, seguido por la adición de 2-amino-4,6-dicloro-5-formilpirimidina [5604-46-6] (10,0 g, 52 mmol, 1,0 eq.) como una suspensión en THF (180 ml). Se retiró el baño de enfriamiento y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se enfrió la reacción a -78°C , después se añadió lentamente NH_4Cl (sat., ac.). Se retiró el baño de enfriamiento y se agitó la mezcla durante 1,5 horas. Se separó la capa orgánica, se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4), se retiraron los sólidos por filtración y se retiraron los disolventes del líquido filtrado a presión reducida. Se purificó el bruto por cromatografía de columna sobre sílice usando un gradiente de éter de petróleo a acetato de etilo para proporcionar un aceite incoloro, **A-1** (1,2 g).

RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ ppm 5,30 (a. s, 2 H), 5,65 (d, 1 H), 5,82 (d, 1 H), 6,58 (c, 1H).

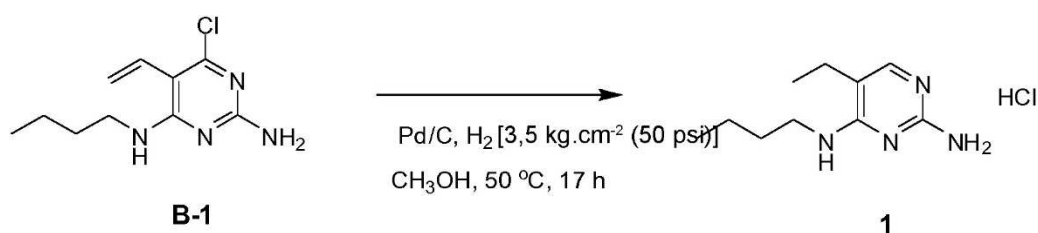
Preparación de **B-1**

Se calentaron para hacer hervir a reflujo **A-1** (1,0 g, 5,26 mmol), *n*-butilamina (0,39 g, 5,26 mmol) y Et_3N (0,53 g, 5,26 mmol, 1,0 eq.) en etanol (10 ml) durante 12 horas. Se retiró el disolvente a presión reducida. Se purificó el bruto por cromatografía de columna sobre gel de sílice usando un gradiente de éter de petróleo a acetato de etilo. Se agruparon las mejores fracciones y se concentraron a presión reducida para dar **B-1** (300 mg).

LC-MS $m/z = 227$ (M+H)

RMN de ^1H (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,95 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H), 1,38 (cd, $J = 14,9$; 7,4 Hz, 2H), 1,55 (quin, $J = 7,4$ Hz, 2 H), 3,38 (c, $J = 7,3$ Hz, 2 H), 4,75 (a. s, 2 H), 5,39 (a. s, 1 H), 5,5 (m, 2H), 6,55 (m, 1H).

Preparación del ejemplo 1



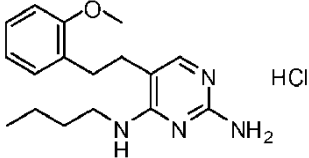
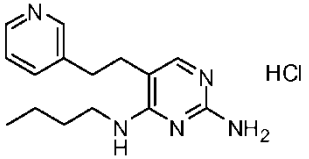
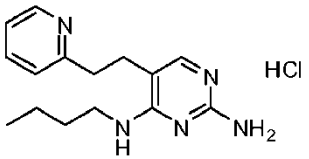
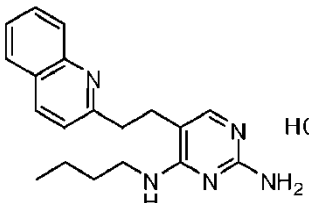
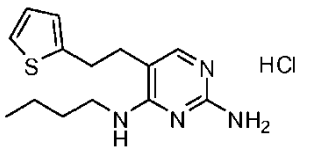
A una solución de **B-1** (200 mg, 0,88 mmol, 1,0 eq.) en metanol (5 ml) se añadió Pd/C al 10% (20 mg) y se mezcló con gas H₂ (3,5 kg·cm⁻² (50 psi)) a 50 °C durante 17 horas. Se purificó el producto bruto por cromatografía líquida de alta resolución preparativa (columna C18, eluyente: CH₃CN/H₂O de 10/90 a 95/5, HCl al 0,05 %). Se agruparon las fracciones deseadas y se concentraron a presión reducida para proporcionar **1** (74 mg).

LC-MS m/z = 195 (M+H)

RMN de ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,20 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,38 (cd, J = 14,9; 7,4 Hz, 2 H), 1,62 (quin, J = 7,4 Hz, 2 H), 1,93 (a. s, 1 H), 2,37 (c, J = 7,3 Hz, 2 H), 3,40 - 3,63 (m, 2 H), 6,18 (a. s, 1 H), 7,24 (a. s, 1 H), 13,43 (a. s, 1 H).

Tabla 1. Compuestos de fórmula (I). Todos los compuestos fueron sintetizados según el método para preparar el ejemplo 1.

#	ESTRUCTURA	RMN de H	Método LC, t _R (min)	Masa encontrada (M+H)
1		RMN de ¹ H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,20 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,38 (cd, J = 14,9; 7,4 Hz, 2 H), 1,62 (quin, J = 7,4 Hz, 2 H), 1,93 (a. s, 1 H), 2,37 (c, J = 7,3 Hz, 2 H), 3,40 - 3,63 (m, 2 H), 6,18 (a. s, 2 H), 7,24 (a. s, 1 H), 13,43 (a. s, 1 H)	1; 3,86	195
2		RMN de ¹ H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,20 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,38 (cd, J = 14,9; 7,4 Hz, 2 H), 1,62 (quin, J = 7,4 Hz, 2 H), 1,93 (a. s, 1 H), 2,37 (c, J = 7,3 Hz, 2 H), 3,40 - 3,63 (m, 2 H), 6,18 (a. s, 2 H), 7,24 (a. s, 1 H), 13,43 (a. s, 1 H)	2; 3,6	271
3		RMN de ¹ H (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,92 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,26 - 1,38 (m, 2 H), 1,56 (t, J = 7,3 Hz, 2 H), 2,53 - 2,57 (m, 2 H), 2,63 - 2,72 (m, 2 H), 3,41 - 3,47 (m, 2 H), 3,71 (s, 3 H), 3,73 (s, 3 H), 6,46 (dd, J = 8,3; 2,5 Hz, 1 H), 6,51 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 7,02 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,24 (a. s, 1 H), 7,61 (a. s, 2 H), 8,15 (t, J = 5,6 Hz, 1 H), 11,85 (a. s, 1 H)	2; 3,71	331
4		RMN de ¹ H (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,89 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,24 - 1,39 (m, 2 H), 1,54 (quin, J = 7,3 Hz, 2 H), 2,52 - 2,58 (m, 2 H), 2,69 - 2,78 (m, 2 H), 3,38 - 3,45 (m, 2 H), 3,71 (s, 3 H), 6,86 (t, J = 7,4 Hz, 1 H),	2; 3,71	301

#	ESTRUCTURA	RMN de H	Método LC, t _R (min)	Masa encontrada (M+H)
		6,93 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,12 (dd, $J = 7,3, 1,5$ Hz, 1 H), 7,15 - 7,22 (m, 1 H), 7,26 (s, 1 H), 7,62 (a. s, 2 H), 8,16 (t, $J = 5,5$ Hz, 1 H), 12,01 (a. s, 1 H)		
5		RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,91 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H), 1,22 - 1,39 (m, 2 H), 1,56 (t, $J = 7,3$ Hz, 2 H), 2,72 - 2,83 (m, 2 H), 2,91 - 3,04 (m, 2 H), 3,43 (c, $J = 6,5$ Hz, 2 H), 7,59 (s, 1 H), 7,72 (a. s, 2 H), 8,06 (dd, $J = 8,0$ Hz; 5,8 Hz, 1 H), 8,56 - 8,69 (m, 2 H), 8,83 (d, $J = 5,3$ Hz, 1 H), 9,03 (s, 1 H), 12,28 (a. s, 1 H)	1; 3,34	272
6		RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,91 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H), 1,32 (sxt, $J = 7,4$ Hz, 2 H), 1,60 (quin, $J = 7,3$ Hz, 2 H), 2,85 - 2,96 (m, 2 H), 3,18 - 3,28 (m, 2 H), 3,45 (c, $J = 6,8$ Hz, 2 H), 7,65 (s, 1 H), 7,75 (a. s, 2 H), 7,95 (t, $J = 6,4$ Hz, 1 H), 8,06 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 8,56 (dt, $J = 7,8$ Hz; 1,4 Hz, 1 H), 8,73 (t, $J = 5,5$ Hz, 1 H), 8,85 (d, $J = 4,8$ Hz, 1 H), 12,28 (a. s, 1 H)	1; 3,33	272
7		RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,90 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H), 1,23 - 1,41 (m, 2 H), 1,57 (quin, $J = 7,3$ Hz, 2 H), 2,98 (t, $J = 7,5$ Hz, 2 H), 3,39 (d, $J = 7,9$ Hz, 2 H), 3,41 - 3,54 (m, 3 H), 7,64 (d, $J = 4,9$ Hz, 1 H), 7,70 (a. s, 1 H), 7,87 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 7,96 (a. s, 1 H), 8,07 (a. s, 1 H), 8,26 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H), 8,37 (a. s, 1 H), 8,61 (a. s, 1 H), 8,96 (a. s, 1 H), 12,03 (d, $J = 4,3$ Hz, 1 H)	2; 2,54	322
8		RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,85 - 0,93 (m, 3 H), 1,23 - 1,35 (m, 2 H), 1,47 - 1,60 (m, 2 H), 2,63 - 2,72 (m, 2 H), 2,98 (t, $J = 7,5$ Hz, 2 H), 3,46 (a. s, 2 H), 6,88 (d, $J = 3,3$ Hz, 1 H), 6,94 (dd, $J = 5,1, 3,4$ Hz, 1 H), 7,32 (dd, $J = 5,1, 1,1$ Hz, 1 H), 7,43 (d, $J = 5,3$ Hz, 1 H), 7,59 (a. s, 2 H), 8,27 (t, $J = 5,8$ Hz, 1 H), 11,87 (d, $J = 5,8$ Hz, 1 H)	1, 4,52	277

Métodos analíticos. Todos los compuestos fueron caracterizados por LC-MS usando los siguientes métodos:

Método 1. Se equipó un LC-MS Agilent 1100 en modo de ion positivo con una columna YMC-PACK ODS-AQ, 50 mm x 2,0 mm, 5 • m mantenida a 50 °C. Se usaron la fase móvil y el gradiente siguientes durante un tiempo de

funcionamiento total de 10 minutos a 0,8 ml/min, controlando a 220 nm:

Fase móvil	A: H ₂ O• TFA al 0,1 % •		
	B: CH ₃ CN• TFA al 0,05 % •		
Gradiente	Tiempo (min)	% A	% B
	0	100	0
	1	100	0
	5	40	60
	7,5	40	60
	8	100	0

Método 2. Se equipó un LC-MS Agilent 1100 en modo de ion positivo con una columna YMC-PACK ODS-AQ, 50 mm x 2,0 mm, 5 • m mantenida a 50 °C. Se usaron la fase móvil y el gradiente siguientes durante un tiempo de funcionamiento total de 10 minutos a 0,8 ml/min, controlando a 220 nm:

Fase móvil	A: H ₂ O• TFA al 0,1 % •		
	B: CH ₃ CN• TFA al 0,05 % •		
	Tiempo (min)	% A	% B
	0	90	10
	0,8	90	10
	4,5	20	80
	7,5	20	80
	8	90	10

Actividad biológica de los compuestos de fórmula (I)

Descripción de los ensayos biológicos

Valoración de la actividad de TLR 7 y TLR 8

- 10 La capacidad de los compuestos para activar TLR7 (hTLR7) y/o TLR8 (hTLR8) humanos se valoró en un ensayo de indicador celular usando células HEK293 transfectadas de manera transitoria con un vector de expresión de TLR7 o TLR8 y construcción indicadora NFκB-luc. En un caso la construcción de expresión de TLR expresa la respectiva secuencia natural o una secuencia mutante que comprende una supresión en la segunda repetición rica en leucina del TLR. Se ha demostrado previamente que dichas proteínas TLR mutantes son más susceptibles a la activación de agonista (Patente de EE. UU. 7498409).
- 15

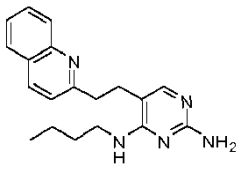
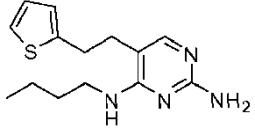
- En resumen, se cultivaron células HEK293 en medio de cultivo (DMEM enriquecido con FCS al 10 % y glutamina 2 mM). Para la transfección de las células en placas de 10 cm, se desprendieron las células con tripsina-AEDT, se transfectaron con una mezcla de CMV-TLR7 o plásmido TLR8 (750 ng), plásmido NFκB-luc (375 ng) y un reactivo de transfección y se incubaron durante la noche a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 % humidificada. Se desprendieron después las células transfectadas con tripsina-AEDT, se lavaron en PBS y se volvieron a suspender
- 20

en medio a una densidad de $1,67 \times 10^5$ células/ml. Después se dispensaron treinta microlitros de células en cada pozo en placas de 384 pozos, donde ya había 10 μ l de compuesto en DMSO al 4 %. Tras 48 horas de incubación a 37 °C, CO₂ al 5 %, se determinó la actividad de la luciferasa por adición de 15 μ l de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) a cada pozo y se realizó la lectura en un generador de imágenes de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Se generaron curvas de respuesta a la dosis a partir de mediciones realizadas por cuadruplicado. Los valores de las concentraciones eficaces más bajas (LEC, por sus siglas en inglés), definidos como la concentración que induce un efecto que es al menos dos veces mayor que la desviación estándar del ensayo, se determinaron para cada compuesto.

Paralelamente, se usó una serie de dilución similar de compuestos (10 • L de compuesto en DMSO al 4 %) con 30 • l por pozo de células transinfectadas con construcción indicadora NF• B-luc solo ($1,67 \times 10^5$ células/ml). Seis horas después de la incubación a 37 °C, CO₂ al 5 %, se determinó la actividad de la luciferasa por adición de 15 • l de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) a cada pozo y se realizó la lectura en un generador de imágenes de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Los datos del cribado inverso se indican como LEC.

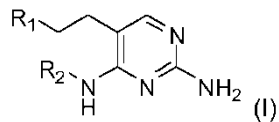
Todos los compuestos mostraron CC50 de >24 μ M en el ensayo TOX de HEK 293 descrito anteriormente.

#	ESTRUCTURA	Peso hTLR7 (LEC)	Peso hTLR8 (LEC)
1		2,4	1,3
2		6,7	6,5
3		2,4	12
4		5	13
5		1,2	1,4
6		0,6	1,6

#	ESTRUCTURA	Peso hTLR7 (LEC)	Peso hTLR8 (LEC)
7		0,5	1,2
8		8,1	3,6

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



5 o una sal, un solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R₁ es hidrógeno, o R₁ es un grupo heterocíclico C₄₋₇, arilo o un grupo heterocíclico bicíclico, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido por uno o más alcoxi C₁₋₆;

R₂ es alquilo C₁₋₆,

10 con la condición de que se excluya N-(2-amino-5-fenetilpirimidin-4-il)-N-pentilamina, para uso en el tratamiento de un trastorno en el que esté implicada la modulación de TLR 7 y/o la modulación de TLR8 para tratar infecciones víricas.