

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 703**

51 Int. Cl.:

**C07D 207/04** (2006.01) **A61P 1/00** (2006.01)  
**C07D 403/06** (2006.01)  
**A61K 31/40** (2006.01)  
**A61K 31/4025** (2006.01)  
**C07K 5/103** (2006.01)  
**C07K 5/117** (2006.01)  
**C07K 5/107** (2006.01)  
**C07K 5/097** (2006.01)  
**A61K 38/00** (2006.01)  
**A61K 47/54** (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2016 PCT/US2016/041563**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.01.2017 WO17008033**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2016 E 16822053 (1)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2020 EP 3265443**

54 Título: **Derivados de la pirrolidina carboxamida y métodos para preparar y utilizar la misma**

30 Prioridad:

**08.07.2015 KR 20150097040**

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

**30.09.2020**

73 Titular/es:

**RESEARCH & BUSINESS FOUNDATION  
 SUNGKYUNKWAN UNIVERSITY (50.0%)  
 Cheoncheon-dong Sungkyunkwan University,  
 2066 Seobu-ro, Jangan-gu  
 Suwon-si, Gyeonggi-do 440-746, KR y  
 KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL  
 TECHNOLOGY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CHOI, GILDON;  
 RHEE, SANG DAL;  
 ALI, IMRAN;  
 CHAE, CHONG, HAK;  
 PARK, SEOK HEE;  
 JEON, MOON, KOOK;  
 LEE, YOUN SOOK y  
 LEE, KWANGHO**

74 Agente/Representante:

**DÍAZ NUÑEZ, Joaquín**

ES 2 784 703 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 la pirrolidina carboxamida y métodos para preparar y utilizar la misma

Campo técnico

5 [0001] La presente invención se refiere a los derivados de la pirrolidina carboxamida, sus isómeros ópticos o sus sales farmacéuticas, y a los métodos de preparación de los mismos. La presente invención se relaciona además con las composiciones para su uso.

Estado de la técnica previa

10 [0002] Se han propuesto diversos compuestos/composiciones/métodos, incluidos, entre otros, medicamentos inmunosupresores (por ejemplo, el infliximab), ácidos aminosalicílicos (por ejemplo, la sulfasalazina) y esteroides, como  
 15 medios para reducir las citoquinas y/o quimioquinas a fin de prevenir y/o tratar diversas enfermedades, incluidas, entre otras, indicaciones inflamatorias, cánceres e indicaciones oftálmicas (Opinión de expertos sobre medicamentos emergentes (2015) 20(3):349-352; Cell. (2010) 19 de marzo; 140(6): 883-899; Progress in Retinal and Eye Research 37(2013) 68e89). Sin embargo, son insatisfactorios al menos porque son caros, y/o implican efectos secundarios, y/o muestran una baja eficacia terapéutica (P&T 41(2016), Jun no 6; Gut 56(2007):725-732; World J Gastroenterol (2005);11 (16):2462-2466). Por lo tanto, sigue siendo necesario un nuevo compuesto, composición y/o método.

[0003] La WO 2006/113942 A2 proporciona métodos para inhibir la actividad de la catepsina en un sujeto que la necesite, que consisten en administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de al menos un compuesto de diversas fórmulas divulgadas en dicho documento. Además, se proporcionan métodos de tratamiento de diversas enfermedades utilizando los compuestos anteriores.

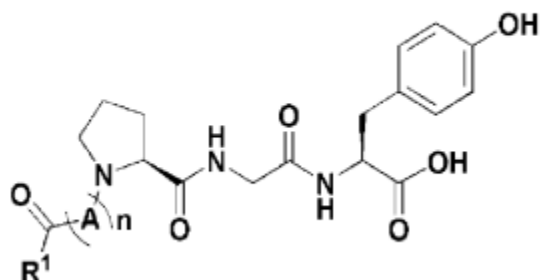
20 [0004] La WO 2008/060552 A2 a los ligandos de amida peptídica sintética del receptor opiáceo kappa y, en particular, a los agonistas del receptor opiáceo kappa que presentan una baja inhibición de P450 CYP y una baja penetración en el cerebro. Las composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos son útiles en la profilaxis y el  
 25 tratamiento del dolor y la inflamación asociados con una variedad de enfermedades y condiciones médicas. Estos dolores tratables incluyen el dolor visceral, el dolor neuropático y la hiperalgesia. La inflamación asociada a las condiciones como la EII y el SII, la inflamación ocular y ótica, otros trastornos y condiciones como la pruritis, el edema, la hiponatremia, la hipocaliemia, el íleo, la tos ferina y el glaucoma son tratables o prevenibles con las composiciones farmacéuticas.

Resumen

30 [0005] La presente invención, que se define en las reivindicaciones adjuntas, se basa en el descubrimiento de que ciertos derivados de la pirrolidina carboxamida son capaces de suprimir la expresión y la actividad de las citoquinas inflamatorias (por ejemplo, la IL-6) y/o las quimioquinas y pueden permanecer en una concentración suficientemente elevada en un tejido o célula diana, a la vez que están menos expuestos a la sangre. La presente invención se basa también en el descubrimiento de que ciertos derivados de la pirrolidina carboxamida son capaces de inhibir la actividad de NF- $\kappa$ B mediante la estabilización de I $\kappa$ B. La presente invención se basa además en el descubrimiento de que  
 35 ciertos derivados de la pirrolidina carboxamido son capaces de interrumpir la formación del complejo de transducción de señales inflamatorias mediadas por el gen de respuesta primaria de diferenciación mielóide 88 (MyD88) y/o la proteína que interactúa con el receptor 1 (RIP1) que actúan en el flujo descendente de la vía de señalización que involucra al receptor tipo Toll 2/4 e IL-1 $\beta$ .

40 [0006] En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos representados por la siguiente Fórmula 1, isómeros ópticos de la misma, o sales farmacéuticamente aceptables de la misma.

## [Formula 1]



en la que: n es 0, 1, o 2; A es -a1-, que es un aminoácido seleccionado independientemente del grupo formado por alanina, (Ala, A), arginina (Arg, R), asparagina (Asn, N), ácido aspártico (Asp, D), cisteína (Cys, C), ácido glutámico (Glu, E), glutamina (Gln, Q), glicina (Gly, G), histidina (His, H), isoleucina (Ile, I), leucina (Leu, L), lisina (Lys, K), metionina (Met, M), fenilalanina (Phe, F), prolina (Pro, P), serina (Ser, S), treonina (Thr, T), triptófano (Trp, W), tirosina (Tyr, Y) y valina (Val, V), acoplándose ambos extremos terminales del aminoácido a un grupo carbonilo o a un grupo amina mediante un enlace amida; y R1 es un alquilo de cadena recta o cadena ramificada C1-36, un alquilo de cadena recta o cadena ramificada C2-36 que incluye al menos un enlace doble, o un alquilo de cadena recta o cadena ramificada C2-36 que incluye al menos un enlace triple.

[0007] En otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para preparar los compuestos, los isómeros ópticos y las sales.

[0008] En otro aspecto más, la presente invención proporciona composiciones para su uso en la prevención, mejora y tratamiento de diversas enfermedades (por ejemplo, indicaciones inflamatorias, cánceres e indicaciones oftálmicas). Cada una de las composiciones comprende, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales.

[0009] En la presente invención se describen con más detalle, pero no forman parte de ella, los métodos para prevenir, mejorar o tratar diversas enfermedades (por ejemplo, indicaciones inflamatorias, cánceres e indicaciones oftálmicas). Cada uno de los métodos comprende la administración a un sujeto necesitado de una composición que contenga, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales.

[0010] Los compuestos según ciertos modos de realización de la presente invención pueden inhibir la descomposición de I $\kappa$ B en la vía de señalización de la inflamación mediada por MyD88 (complejo de midosoma) y/o RIP 1, impidiendo así que NF- $\kappa$ B sea transportado al núcleo de una célula, lo que da lugar a la supresión de la expresión de citoquinas y quimioquinas (por ejemplo, G-CSF, IL-2, SCF, VEGF, CX3CL1, IGFBP5, IGFBP6, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-9, MCP-1, MIP-3 $\alpha$ , IL12p40/70, MIG, TNF $\alpha$ , y VCAM-1) y previene la reacción de inflamación que de otro modo podría ser causada por la expresión de las mismas.

[0011] Otros aspectos y ventajas de la presente invención se harán evidentes para el experto en la materia a partir del estudio de la descripción detallada y los dibujos.

Breve descripción de los dibujos

[0012]

La FIG. 1A es un resultado de electroforesis que muestra que los compuestos según los modos de realización de la presente invención suprimen la expresión de la IL-6.

La FIG. 1B es un gráfico que muestra que los compuestos según los modos de realización de la presente invención suprimen la expresión de la IL-6.

- La FIG. 2 muestra que los compuestos según los modos de realización de la presente invención suprimen la expresión de las citoquinas y quimioquinas en una línea celular RAW 264.7.
- La FIG. 3 muestra que los compuestos según las características de la presente invención suprimen la expresión de la IL-6 en un huésped de una línea celular RAW 264.7.
- 5 La FIG. 4 muestra que los compuestos según las características de la presente invención inhiben la actividad de NF-κB.
- La FIG. 5 muestra que los compuestos según las características de la presente invención suprimen la actividad de NF-κB.
- 10 La FIG. 6 muestra que los compuestos según los modos de realización de la presente invención inhiben la actividad de NF-κB mientras que no afectan a la transmisión de la señal de TGF-β y BMP.
- La FIG. 7 es un resultado de inmunoprecipitación que muestra que los compuestos según las características de la presente invención inhiben la formación del complejo proteínico de la vía de señalización inflamatoria mediada por IRAK-1, MyD88, y/o RIP1 y muestra que los compuestos según las características de la presente invención cambian la concentración de IκB.
- 15 La FIG. 8 es un resultado de inmunoprecipitación que muestra que los compuestos según las características de la presente invención pueden interrumpir la formación del complejo proteínico de la vía de señalización inflamatoria mediada por IRAK-1, MyD88, y/o RIP1.
- La FIG. 9 muestra que el cambio en la concentración de pre tratamiento de los compuestos de acuerdo con los modos de realización de la presente invención cambia la concentración de IκB en las células de macrófagos RAW 264.7 y las células BMDM.
- 20 La FIG. 10 es un gráfico que indica las puntuaciones del índice de actividad de la enfermedad en un modelo animal con colitis crónica inducida por el DSS según la dosis de los compuestos según los modos de realización de la presente invención en caso de administración oral de los mismos.
- La FIG. 11A muestra las puntuaciones del índice de actividad de la enfermedad, que representan la capacidad de los compuestos según los modos de realización de la presente invención para suprimir la colitis aguda en un modelo animal con colitis aguda inducida por el DSS.
- 25 La FIG. 11B muestra los compuestos según los modos de realización de la presente invención que afectan la cantidad de expresión de las quimiocinas (CCL2, CCL20 y CXCL1) en un modelo de ratón con colitis crónica inducida por el DSS.
- 30 Las FIGS 12-16 son imágenes que muestran formas de vellosidades intestinales grandes de un grupo no tratado, un grupo modelo de colitis crónica inducida por el DDS, y un grupo tratado con compuestos de acuerdo con los modos de realización de la presente invención.
- La FIG. 17 es un gráfico que muestra el nivel de recuperación de la pared del intestino grueso en un grupo no tratado, un grupo modelo de colitis crónica inducida por el DDS, un grupo tratado con compuestos de acuerdo con los modos de realización de la presente invención, y un grupo tratado con sulfasalazina.
- 35 La FIG. 18 es un gráfico que muestra los cambios en la concentración sanguínea con el tiempo de los compuestos según los modos de realización de la presente invención mediante administración intravenosa.
- La FIG. 19 es un gráfico que muestra los cambios en la concentración de la sangre con el tiempo de los compuestos según los modos de realización de la presente invención mediante administración oral.
- 40 La FIG. 20A es una imagen de Western blot que confirma si los compuestos según los modos de realización de la presente invención inhiben la vía de señalización MAPK/ERK.
- La FIG. 20B es un diagrama que muestra la vía de señalización de los receptores tipo Toll.

La FIG. 21 es una imagen del Western blot que confirma si los compuestos según los modos de realización de la presente invención inhiben la vía de señalización de MAPK/ERK.

La FIG. 22A y FIG. 22B muestran el nivel de inhibición de la activación de NF-κB por compuestos según los modos de realización de la presente invención y un inhibidor IRAK1/4, respectivamente.

5 La FIG. 23 es una imagen del inmunoblot que confirma si los compuestos según los modos de realización de la presente invención y un inhibidor IRAK1/4 cambian la concentración de IκB.

La FIG. 24A y FIG. 24B son una imagen y un gráfico, respectivamente, en los que se compara la capacidad de los compuestos según los modos de realización de la presente invención para inhibir la vía de señalización MAPK/ERK y la capacidad de un inhibidor IRAK1/4 para inhibir la vía de señalización MAPK/ERK.

10 La FIG. 25A es una imagen del Western blot que confirma si los compuestos según los modos de realización de la presente invención suprimen, en ARPE-19, la expresión de Nox-4, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, Ang-2, EPO y EPOR y pueden aumentar la expresión de Ang-1 y Tie2.

La FIG. 25B es una imagen de qRT-PCR que confirma si los compuestos según los modos de realización de la presente invención suprimen la expresión de VEGF en HRMEC.

15 La FIG. 26 es una imagen que muestra que los compuestos según los modos de realización de la presente invención suprimen la formación de tubos en HRMEC.

La FIG. 27A y 27B son imágenes que muestran que los compuestos según los modos de realización de la presente invención suprimen el oxígeno activado aumentado en un modelo de ratón con retinopatía diabética de tipo 1 inducida por STZ.

20 La FIG. 28A es un gráfico que muestra que los compuestos de acuerdo con los modos de realización de la presente invención tienen un efecto terapéutico en ratones EAE inducidos por MOG.

La FIG. 28B es un gráfico que muestra que los compuestos según la incorporación de la presente invención cambian el peso de los ratones EAE inducidos por el MOG.

25 La FIG. 29 es un gráfico que muestra que los compuestos según los modos de realización de la presente invención tienen un efecto terapéutico en un modelo de ligadura y punción Cecal (CLP).

Descripción detallada

#### 1. Definiciones

[0013] Salvo que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el significado comúnmente entendido por un experto en la materia a la que pertenece esta divulgación. Las siguientes referencias proporcionan al experto una definición general de muchos de los términos utilizados en esta invención: The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et. al. (eds.), Springer Verlag (1991); y Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991). Tal como se utilizan en el presente documento, los siguientes términos tienen los significados que se les atribuyen a continuación, a menos que se especifique lo contrario.

35 [0014] A menos que se indique específicamente o resulte obvio por el contexto, tal como se utiliza en el presente documento, el término "o" se entiende como inclusivo.

[0015] A menos que se indique específicamente o resulte obvio por el contexto, tal como se utiliza en el presente documento, los términos "un/una" y "el/la" se entienden en singular o en plural. Así, por ejemplo, la referencia a "un compuesto" incluye las mezclas de tales compuestos; la referencia a "un portador" incluye las mezclas de dos o más portadores; y similares.

40 [0016] A menos que se indique específicamente o resulte obvio por el contexto, tal como se utiliza en el presente documento, el término "sobre" se entiende como dentro de una gama de tolerancia normal en la técnica, por ejemplo, dentro de 2 desviaciones estándar de la media. "Sobre" puede entenderse como dentro del 10%, 9%, 8%, 7%,

6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, o 0,01% del valor declarado. A menos que el contexto indique lo contrario, todos los valores numéricos proporcionados en el presente documento se modifican por el término "sobre."

5 [0017] Los términos "agente activo", "droga" y "agente farmacéutico" se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse a un material o compuesto químico que, cuando se administra a un sujeto (por ejemplo, cualquier animal, incluido un humano o un animal no humano) por cualquier medio y/o vía induce un efecto farmacológico deseado (por ejemplo, como una reducción de la inflamación).

10 [0018] El término "aditivo", tal como se utiliza en el presente documento, puede referirse a cualquier componente adicional que pueda añadirse a las composiciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, los aditivos pueden incluir excipientes (por ejemplo, uno o más excipientes), antioxidantes (por ejemplo, uno o más antioxidantes), estabilizadores (por ejemplo, uno o más estabilizadores), conservantes (por ejemplo, uno o más conservantes), agentes de ajuste de pH y/o tampones (por ejemplo, uno o más agentes de ajuste de pH y/o tampones), agentes de ajuste de tonicidad (por ejemplo, uno o más agentes de ajuste de tonicidad), agentes espesantes (por ejemplo, uno o más agentes espesantes), agentes de suspensión (por ejemplo, uno o más agentes de suspensión), agentes aglutinantes (por ejemplo, uno o más agentes aglutinantes), agentes que aumentan la viscosidad (por ejemplo, uno o más agentes que aumentan la viscosidad) y similares, siempre que los componentes adicionales sean aceptables desde el punto de vista farmacéutico para la condición particular que se va a tratar. Los aditivos también pueden incluir agentes de transformación y modificadores y potenciadores de la administración de las drogas, como, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, dextrosa, hidroxipropil-betaciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de baja fusión, resinas de intercambio iónico y similares, así como combinaciones de dos o más de los mismos. Se describen otros excipientes farmacéuticamente aceptables en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Pub. Co., Nueva Jersey (1991), y "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, 20ª edición (2003) y 21ª edición (2005). Los aditivos descritos en el presente documento pueden utilizarse en cualquier cantidad adecuada.

25 [0019] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "administración" significa la administración oral, la administración como supositorio, el contacto tópico, la administración intravenosa, parenteral, intraperitoneal, intramuscular, intralesional, intratecal, intranasal o subcutánea, o la implantación de un dispositivo de liberación lenta, por ejemplo, una mini bomba osmótica, a un sujeto. La administración se realiza por cualquier vía, incluidas la parenteral y la transmucosa (por ejemplo, por vía oral, nasal, pulmonar, rectal, bucal, vaginal, ocular y transdérmica).

30 [0020] Los términos "derivado" y "análogo" se utilizan en el presente documento indistintamente, y se refieren a un compuesto que posee el mismo núcleo que un compuesto originario, pero que difiere del compuesto originario en el orden de enlace, en ausencia o presencia de uno o más átomos y/o grupos de átomos, y sus combinaciones. El derivado puede diferir del compuesto originario, por ejemplo, en uno o más sustitutos presentes en el núcleo, que pueden incluir uno o más átomos, grupos funcionales o subestructuras. El derivado también puede diferir del compuesto originario en el orden de enlace entre los átomos dentro del núcleo. En general, se puede imaginar que un derivado se forma, al menos teóricamente, a partir del compuesto originario mediante procesos químicos y/o físicos.

40 [0021] Tal como se utiliza en el presente documento, los "antioxidantes" pueden referirse a sustancias naturales o artificiales que pueden prevenir o retrasar algunos tipos de daño celular y/u oxidación. Los antioxidantes se encuentran en muchos alimentos, incluyendo frutas y verduras. También están disponibles como suplementos dietéticos. Algunos ejemplos de antioxidantes son  $\beta$ -caroteno, luteína, licopeno, selenio, vitamina A, vitamina C y vitamina E. También se pueden utilizar otros antioxidantes conocidos por su habilidad en la técnica. Los antioxidantes descritos en el presente documento pueden utilizarse en cualquier cantidad adecuada.

45 [0022] Por "co-administrar" se entiende que un compuesto o composición descrito en el presente documento se administra al mismo tiempo, justo antes o justo después de la administración de terapias adicionales o agentes activos o aditivos aquí descritos. El compuesto o la composición de la descripción puede ser administrado solo o puede ser coadministrado a un sujeto que lo necesite. La coadministración se refiere a la administración simultánea o secuencial del compuesto de manera individual o en combinación (más de un compuesto o agente). Los preparados también pueden combinarse, cuando se desee, con otras sustancias activas.

50 [0023] En la presente descripción, "comprende", "comprendiendo", "conteniendo" y "teniendo" y similares pueden tener el significado que se les atribuye en la Ley de Patentes de los EE.UU y pueden significar "incluye", "incluyen-

do" y similares; "consistente esencialmente en" o "consistente esencialmente" tiene igualmente el significado que se atribuye en la Ley de Patentes de los EE.UU y el término es abierto, permitiendo la presencia de más de lo que se menciona siempre que las características básicas o novedosas de lo que se menciona no se modifiquen por la presencia de más de lo que se menciona, pero excluye los modos de realización del estado de la técnica anterior.

5 [0024] Tal como se utiliza en el presente documento, la "administración concurrente" incluye la superposición de la duración, al menos en parte. Por ejemplo, cuando dos agentes (por ejemplo, cualquiera de los agentes o clase de agentes descritos en el presente documento que tenga bioactividad) se administran de forma concurrente, su administración se produce dentro de un cierto tiempo deseado. La administración de los agentes puede comenzar y terminar el mismo día. La administración de un agente también puede preceder a la administración de un segundo agente por día(s) siempre que ambos agentes se tomen el mismo día por lo menos una vez. Del mismo modo, la administración de un agente puede extenderse más allá de la administración de un segundo agente siempre que ambos agentes se tomen el mismo día al menos una vez. No es necesario que el agente o agentes activos se tomen a la misma hora todos los días para incluir la administración concurrente.

10 [0025] Tal como se utiliza en el presente documento, una "cantidad efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" es aquella cantidad suficiente para tener un efecto biológico deseado, como unos resultados beneficiosos, incluidos los resultados clínicos. Como tal, una "cantidad efectiva" depende del contexto en el que se aplica. Una cantidad efectiva puede variar según factores conocidos en la técnica, como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso de la persona que se está tratando. Se pueden administrar diariamente varias dosis divididas o reducir proporcionalmente la dosis según lo que indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Además, los compuestos, composiciones o formulaciones de la presente descripción pueden administrarse con la frecuencia necesaria para lograr una cantidad terapéutica.

15 [0026] El término "gel", tal como se utiliza en el presente documento, puede referirse a un material que no es un líquido que fluye fácilmente y no es un sólido, es decir, semisólido. Los geles pueden formarse a partir de materiales naturales o sintéticos. Los geles pueden ser no ordenados a ligeramente ordenados mostrando alguna característica birrefringencia de cristal líquido. Los geles pueden ser administrados tópicamente.

20 [0027] El término "enfermedad inflamatoria del intestino", tal como se utiliza en el presente documento, tiene su significado médico habitual, y se refiere a un grupo de indicaciones/condiciones inflamatorias del colon y el intestino delgado. Entre las enfermedades inflamatorias intestinales ejemplares se incluyen, entre otras, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la enfermedad de Johne, el síndrome de Behçet, la colitis colagenosa, la colitis por desviación, la colitis indeterminada, la colitis infecciosa, la colitis isquémica, la colitis linfocítica y otras enfermedades y trastornos del tracto gastrointestinal estrechamente relacionados.

25 [0028] El término "inhibir", tal como se usa en el presente documento, significa prevenir, disminuir, ralentizar o detener. En un modo de realización, se puede considerar que un compuesto, composición o formulación inhibe la viabilidad de por lo menos una proteína (por ejemplo, G-CSF, IL2, SCF, VEGF, CX3CL1, IGFBP5, IGFBP6, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-9, MCP-1, MIP-3 $\alpha$ , IL12p40/70, MIG, TNF- $\alpha$ , VCAM1, y NF- $\kappa$ B) cuando la cantidad o la velocidad del proceso o reacción que tiene lugar en presencia del compuesto, composición, o formulación se reduce por lo menos en un 10% en comparación con la cantidad o la tasa en ausencia del compuesto, la composición o la formulación. En otro modo de realización, se puede considerar que un compuesto, composición o formulación inhibe un proceso o reacción cuando la cantidad o tasa del proceso o reacción que tiene lugar en presencia del compuesto, composición o formulación se reduce por lo menos en un 20% aproximadamente en comparación con la cantidad o tasa en ausencia del compuesto, composición o formulación. En otros modos de realización, puede considerarse que un compuesto, composición o formulación inhibe la viabilidad de una o más proteínas (por ejemplo G-CSF, IL-2, SCF, VEGF, CX3CL1, IGFBP5, IGFBP6, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-9, MCP-1, MIP-3 $\alpha$ , IL12p40/70, MIG, TNF- $\alpha$ , VCAM-1, y NF- $\kappa$ B) cuando la cantidad o tasa de viabilidad que tiene lugar en presencia del compuesto, composición, o formulación se reduce por lo menos en un 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75% u 80% en comparación con la cantidad o la tasa en ausencia del compuesto, la composición o la formulación. En aún otros modos de realización, se puede considerar que un compuesto, composición o formulación inhibe la viabilidad de una o más proteínas, es decir, detiene su desarrollo.

30 [0029] Tal como se utiliza en el presente documento, la "administración intermitente" incluye la administración de un agente activo durante un período de tiempo (que puede considerarse un "primer período de administración"), seguido de un período durante el cual el agente no se toma o se toma a una dosis de mantenimiento más baja (que pue-

de considerarse un "período de descanso" "off-period"), seguido de un período durante el cual el agente se administra de nuevo (que puede considerarse un "segundo período de administración"). Por lo general, durante la segunda fase de administración, el nivel de dosis del agente coincidirá con el agente administrado durante el primer período de administración, pero puede aumentarse o reducirse según sea necesario desde el punto de vista médico.

5 [0030] Según la información actual, la "gelatina" es una clase de geles, que son sistemas semisólidos que consisten en suspensiones formadas por pequeñas partículas inorgánicas o grandes moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido, en las que la matriz estructural coherente contiene una elevada porción de líquido, generalmente agua.

[0031] El "líquido", tal como se usa en el presente documento, es una forma de dosificación que consiste en una composición en su estado líquido. Un líquido es vertible; fluye y se ajusta a su contenedor a temperatura ambiente.  
10 Los líquidos muestran un comportamiento de flujo Newtoniano o pseudoplástico. En los modos de realización, un "semi-líquido" tal como se usa aquí puede tener propiedades de un líquido y otra formulación (por ej., una suspensión, una emulsión, una solución, una crema, un gel, una gelatina, y similares).

[0032] "Gen de respuesta primaria de diferenciación mielóide 88" o "MYD88" es una proteína que, en los humanos, está codificada por el gen MYD88. MyD88 juega un papel central en la respuesta inmune innata y adaptativa. Esta proteína funciona como un transductor de señales esencial en las vías de señalización de los receptores de interleucina-1 y de tipo Toll-. Estas vías regulan la activación de numerosos genes proinflamatorios. La proteína codificada consiste en un dominio de muerte N-terminal y un dominio del receptor Cterminal Toll-interleukin1.  
15

[0033] Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "pomada" puede referirse a una formulación líquida o semilíquida de alta viscosidad que puede utilizarse para el tratamiento terapéutico de una enfermedad, síndrome o afección (por ejemplo, la enfermedad inflamatoria intestinal).  
20

[0034] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "portador farmacéutico aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antimicóticos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares que sean fisiológicamente compatibles. El tipo de portador puede seleccionarse en función de la vía de administración prevista. Entre los portadores farmacéuticos aceptables figuran las soluciones o dispersiones acuosas estériles y los polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones tópicas estériles. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con la composición (p. ej., la Fórmula I tal como se describe aquí, los derivados/análogos de la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable, disolvente, hidrato, o polimorfo del mismo), se contempla el uso del mismo en las composiciones oftálmicas para la descripción.  
25  
30

[0035] Los "portadores farmacéuticos" o "portadores" utilizados en el presente documento pueden incluir además portadores, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables que no sean tóxicos para la célula o el mamífero que se exponga a ellos en las dosis y concentraciones empleadas. A menudo el portador fisiológicamente aceptable es una solución tampón de pH acuoso. Entre los ejemplos de portadores fisiológicamente aceptables figuran los tampones como el fosfato, el citrato y otros ácidos orgánicos; los antioxidantes, incluido el ácido ascórbico; el polipéptido de bajo peso molecular (menos de unos 10 residuos); las proteínas, como la albúmina sérica, la gelatina o las inmunoglobulinas; los polímeros hidrófilos, como la polivinilpirrolidona; aminoácidos como la glicina, la glutamina, la asparagina, la arginina o la lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos como la glucosa, la manosa o las dextrinas; agentes quelantes como el EDTA; alcoholes de azúcar como el manitol o el sorbitol; contra-iones formadores de sal como el sodio; y/o surfactantes no iónicos como Tween™, el polietilenglicol (PEG), y Pluronic™.  
35  
40

[0036] Además, "aceptable desde el punto de vista farmacéutico" significa aprobado o aprobable por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o la agencia correspondiente en países distintos de los Estados Unidos, o que esté incluido en la Farmacopea de los Estados Unidos u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales y, más particularmente, en seres humanos.  
45

[0037] Los términos "agente de pH" o "agente tampón", tal como se utilizan en este documento, pueden referirse a compuestos o tampones útiles como reguladores de pH. Entre ellos se incluyen, entre otros, los tampones de glicerol, de citrato, de borato, de acetato, de gluconato, de fosfato o de ácido cítrico-fosfato. El agente de pH o el agente tampón puede utilizarse en cualquier cantidad adecuada.



- 5 [0038] El término "conservante", tal como se describe en el presente documento, puede referirse a una sustancia o producto químico que evita cambios químicos indeseables en el compuesto o en las composiciones o fórmulas que se describen en el presente documento. Los conservantes adecuados pueden incluir, por ejemplo, cloruro de benzalconio, timerosal, clorobutanol, metil parabeno, propilparabeno, alcohol feniletílico, ácido sórbico de edetato disódico, Onamer M Polyquat, bromuro de cetilo, cloruro de piridinio de cetilo, bromuro de bencilo, EDTA, nitrato de fenilmercurio, acetato de fenilmercurio, timerosal, mertiolato, acetato y borato de fenilmercurio, sulfato de polimixina B, parabenos de metilo y de propilo, cloruro de amonio cuaternario, benzoato de sodio, propionato de sodio y perborato de sodio, y otros agentes conocidos por los expertos en la técnica, o una combinación de los mismos. El conservante puede utilizarse en cualquier cantidad adecuada.
- 10 [0039] Los términos "prevenir", "previniendo" o "prevención" y otros equivalentes gramaticales utilizados en este documento, incluyen evitar el desarrollo o la aparición de una enfermedad o los síntomas de la afección, y inhibir o alejar la enfermedad o los síntomas de la afección, así como disminuir la aparición de los síntomas. La prevención puede ser completa (es decir, sin síntomas detectables) o parcial, de modo que se observan menos síntomas de los que probablemente se producirían en ausencia de tratamiento. Los términos incluyen además un beneficio profiláctico. Para prevenir una enfermedad o afección, las composiciones pueden administrarse a un paciente con riesgo de desarrollar una enfermedad determinada, o a un paciente que presente uno o más de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, aunque no se haya hecho un diagnóstico de la misma.
- 15 [0040] Los rangos proporcionados en el presente documento se entienden como la abreviación de todos los valores dentro del rango. Por ejemplo, se entiende que un rango de 1 a 50 incluye cualquier número, combinación de números o subrango del grupo formado por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50, así como todos los valores decimales intermedios entre los números enteros mencionados, como por ejemplo, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 y 1,9. En cuanto a las subrangos, se contemplan específicamente los "subrangos anidadas" que se extienden desde cualquiera de los puntos finales del rango. Por ejemplo, un subrango anidado de un rango ejemplar de 1 a 50 puede comprender de 1 a 10, de 1 a 20, de 1 a 30 y de 1 a 40 en una dirección, o de 50 a 40, de 50 a 30, de 50 a 20 y de 50 a 10 en la otra dirección. Los rangos pueden expresarse en este documento desde "aproximadamente" un valor particular, y/o hasta "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa un rango de este tipo, otro aspecto incluye desde el valor particular y/o hasta el otro valor particular. Análogamente, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente", se entiende que el valor particular forma otro aspecto. Se entiende además que los puntos finales de cada uno de los rangos son significativos tanto en relación con el otro punto final, como independientemente del otro punto final. También se entiende que hay varios valores descritos en el presente documento, y que cada valor también se describe en el presente documento como "aproximadamente" ese valor particular además del valor en sí mismo. Se entiende también que a lo largo de la solicitud, los datos se proporcionan en varios formatos diferentes y que estos datos representan puntos finales y puntos iniciales y rangos para cualquier combinación de los puntos de datos. Por ejemplo, si se describen un punto de datos "10" en particular y un punto de datos "15" en particular, se entiende que se consideran descritos el mayor a, el mayor o igual a, el menor a, el menor o igual a, y el igual a 10 y 15, así como entre 10 y 15. Se entiende también que se describe cada unidad entre dos unidades particulares. Por ejemplo, si se describen 10 y 15, entonces también se describen 11, 12, 13 y 14.
- 20 [0041] "Proteína que interactúa con el receptor" o "RIP1" como se usa en el presente documento describe una proteína quinasa que es un regulador crucial de la supervivencia y muerte de una célula. RIP1 y RIP2 también llevan un dominio C-terminal que pertenece a la superfamilia del dominio de la muerte, permitiendo el reclutamiento de grandes complejos proteicos que inician diferentes vías de señalización.
- 25 [0042] Tal y como se utiliza en el presente documento, las "sales" o "forma de sal" o "sales farmacéuticamente aceptadas" pueden incluir sales de adición de bases (formadas con carboxilo libre u otros grupos aniónicos que se derivan de bases inorgánicas como, por ejemplo, el sodio, potasio, amonio, calcio o hidróxidos férricos, y bases orgánicas como isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino-etanol, histidina, procaína y similares. Tales sales están formadas como sales de adición de ácido con cualquier grupo de catiónico libre y generalmente están formadas con ácidos inorgánicos como, por ejemplo, ácido clorhídrico, sulfúrico o fosfórico, o ácidos orgánicos como ácido acético, cítrico, p-toluenesulfónico, metansulfónico, oxálico, tartárico, mandélico y similares. Las sales de la descripción pueden incluir sales aminas formadas por la protonación de un grupo amino con ácidos inorgánicos como el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido hidroyódico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares. Las sales de la descripción también incluyen sales de amina formadas por la protonación de un grupo amino con ácidos orgánicos adecua-
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50

dos, como p-toluenesulfónico, ácido acético y similares. Los excipientes adicionales que se contemplan para su uso en la práctica de la presente descripción son aquellos disponibles para los expertos en la técnica, por ejemplo, aquellos encontrados en la Farmacopea de los Estados Unidos Vol. XXII y el Formulario Nacional Vol. XVII, Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos, S.A., Rockville, Md. (1989).

5 [0043] El "gel semisólido" según la descripción actual es un semisólido. La viscosidad aparente de la formulación semisólida puede aumentar con la concentración.

[0044] Como se utiliza en el presente documento, la "administración secuencial" incluye que la administración de dos agentes (por ejemplo, los compuestos o composiciones descritos en el presente documento) se produce por separado en el mismo día o no se produce en un mismo día (por ejemplo, se produce en días consecutivos).

10 [0045] La "solución", según la descripción actual, puede ser una forma de dosificación líquida clara y homogénea que contiene una o más sustancias químicas disueltas en un solvente o mezcla de solventes mutuamente miscibles. Una solución es una preparación líquida que contiene una o más sustancias químicas disueltas en un solvente adecuado o una mezcla de disolventes mutuamente miscibles. Dado que las moléculas de una sustancia farmacológica en solución se dispersan uniformemente, el uso de soluciones como formas de dosificación suele garantizar la uniformidad de la dosis en el momento de la administración y una buena precisión cuando la solución se diluye o se mezcla de otro modo.

15 [0046] El término "solvente", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un solvente líquido, ya sea acuoso o no acuoso. La selección del solvente depende notablemente de la solubilidad de la composición de dicho solvente y del modo de administración. El solvente acuoso puede estar formado únicamente por agua, o puede consistir en agua más uno o más solventes miscibles, y puede contener solventes disueltos como azúcares, tampones, sales u otros excipientes. Los disolventes no acuosos más utilizados son los alcoholes orgánicos de cadena corta, como el metanol, el etanol, el propanol, las cetonas de cadena corta, como la acetona, y los polialcoholes, como el glicerol. El solvente puede estar presente en cualquier cantidad adecuada.

20 [0047] Por "sujeto" o "paciente" se entiende un humano o un animal no humano, como un mamífero. "Sujeto" puede incluir cualquier animal, incluidos caballos, perros, gatos, cerdos, cabras, conejos, hámsters, monos, conejillos de india, ratas, ratones, lagartos, serpientes, ovejas, ganado, peces y aves. Un sujeto humano puede llamarse paciente.

25 [0048] "Suspensión" como se usa en el presente documento es una forma de dosificación líquida que contiene partículas sólidas dispersas en un vehículo líquido.

30 [0049] Tal como se usa en el presente documento, el término "síndrome" puede referirse a un grupo de síntomas que se producen juntos de manera consistente o a una condición caracterizada por un conjunto de síntomas asociados. Un síndrome (por ejemplo, el síndrome de intestino inflamado) puede ser un conjunto de signos y síntomas médicos que se correlacionan entre sí y, a menudo, se correlacionan con una enfermedad específica. Una enfermedad, por otra parte, puede ser una condición de salud que tiene una razón claramente definida. Sin embargo, un síndrome (de la palabra griega que significa "concurrir") puede producir una serie de síntomas sin una causa identificable. Pueden sugerir la posibilidad de una enfermedad subyacente o incluso las posibilidades de desarrollar una enfermedad.

35 [0050] Los términos "tratar", "tratando" o "tratamiento" y otros equivalentes gramaticales que se utilizan en el presente documento incluyen el alivio, la disminución, la mejora o la prevención de una enfermedad, afección (por ejemplo, la enfermedad inflamatoria intestinal) o síntomas, la prevención de síntomas adicionales, la mejora o la prevención de las causas metabólicas subyacentes de los síntomas, la inhibición de la enfermedad o afección, por ejemplo, detener el desarrollo de la enfermedad o la afección, aliviar la enfermedad o la afección, provocar la regresión de la enfermedad o la afección, aliviar una afección causada por la enfermedad o la afección, o detener los síntomas de la enfermedad o la afección, y pretenden incluir la profilaxis. Los términos incluyen además el logro de un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Por beneficio terapéutico se entiende la erradicación o mejora del trastorno subyacente que se está tratando. Además, se obtiene un beneficio terapéutico con la erradicación o la mejora de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados con el trastorno subyacente, de manera que se observa una mejora en el paciente, a pesar de que éste pueda seguir padeciendo el trastorno subyacente.

40 [0051] Tal como se utiliza en el presente documento, "viscosidad" se refiere a la resistencia de un fluido al flujo. Los agentes de viscosidad pueden utilizarse en el presente documento e incluyen, por ejemplo, alcohol polivinílico,

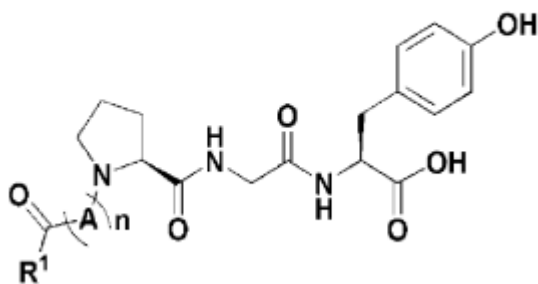
polivinilpirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, otros agentes conocidos por los expertos en la técnica, o una combinación de los mismos.

5 [0052] El término "porcentaje en peso" o "% (p/p)" se refiere a un porcentaje de un componente en una solución que se calcula sobre la base del peso del componente y del solvente. Por ejemplo, una solución al 1% (p/p) de un componente tendría 1 g del componente disuelto en 100 g de disolvente. El término "porcentaje de volumen" o "% (v/v)" se refiere a un porcentaje de un componente en una solución que se calcula sobre la base del volumen para el componente y el solvente. Por ejemplo, una solución al 1% (v/v) de un componente tendría 1 ml del componente disuelto en 100 ml de solvente. El término "porcentaje de peso/volumen" o "% (p/v)" se refiere a un porcentaje de un componente en una solución que se calcula sobre la base del peso para el componente y sobre la base del volumen para el solvente. Por ejemplo, una solución al 1,0% (p/v) de un componente tendría 1 g del componente disuelto en 100 ml de solvente

## 2. Compuestos

15 [0053] Como ya se ha mencionado, un aspecto de la presente invención proporciona un compuesto representado por la siguiente Fórmula 1, un isómero óptico del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

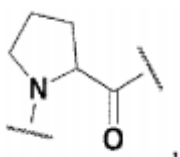
[Formula 1]



20 en la que: n es 0, 1, o 2; A es -a1-, que es un aminoácido seleccionado independientemente del grupo formado por alanina (Ala, A), arginina (Arg, R), asparagina (Asn, N), ácido aspártico (Asp, D), cisteína (Cys, C), ácido glutámico (Glu, E), glutamina (Gln, Q), glicina (Gly, G), histidina (His, H), isoleucina (Ile, I), leucina (Leu, L), lisina (Lys, K), metionina (Met, M), fenilalanina (Phe, F), prolina (Pro, P), serina (Ser, S), treonina (Thr, T), triptófano (Trp, W), tirosina (Tyr, Y) y valina (Val, V), acoplándose ambos extremos terminales del aminoácido a un grupo carbonilo a un grupo amina mediante un enlace amida; y R1 es un alquilo de cadena recta o cadena ramificada C1-36, un alquilo de cadena recta o cadena ramificada C2-36 que incluye al menos un enlace doble, o un alquilo de cadena recta o cadena ramificada C2-36 que incluye al menos un enlace triple.

[0054] El término "compuesto de la presente invención", y expresiones equivalentes, tienen por objeto abarcar el compuesto de la Fórmula tal como se describe en el presente documento, cuya expresión incluye las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos, por ejemplo, los hidratos y los solvatos de las sales farmacéuticamente aceptables cuando el contexto lo permita.

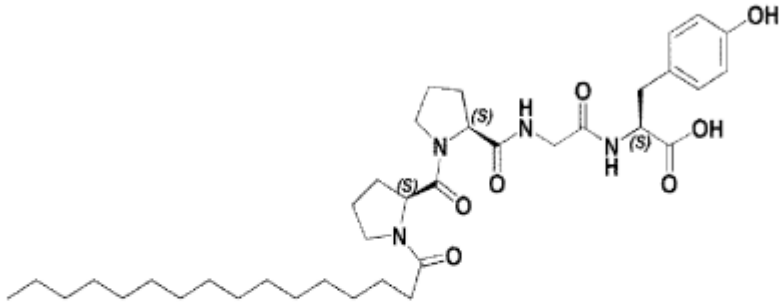
30 [0055] De conformidad con algunas representaciones de la invención, a<sup>1</sup> puede ser



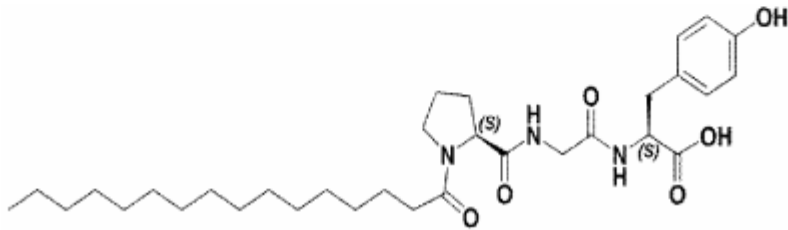
y R1 puede ser una cadena recta o ramificada de alquilo C1-36.

[0056] Entre los ejemplos no limitativos de los compuestos se encuentran los siguientes:

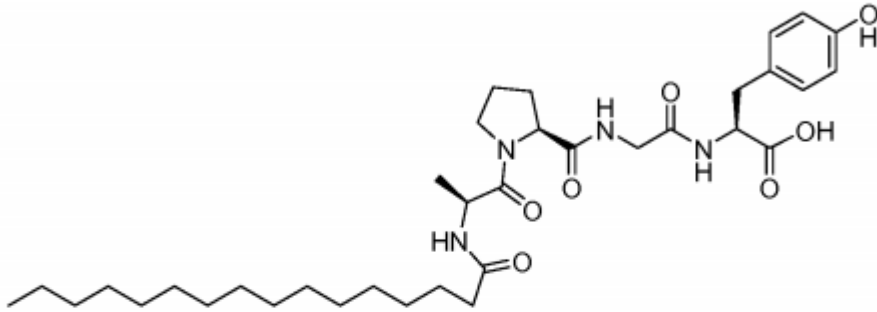
[Formula A]



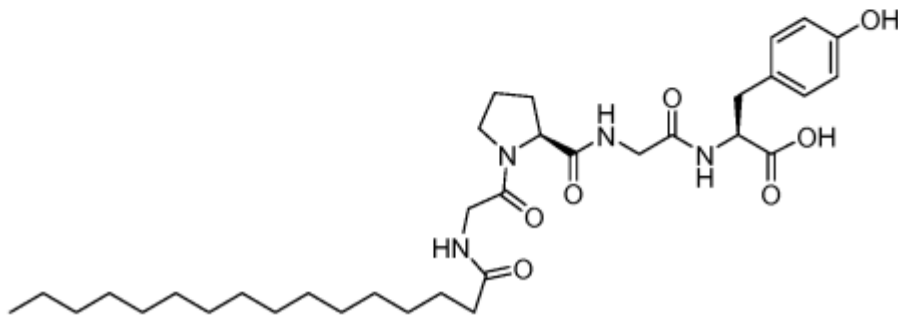
[Formula B]



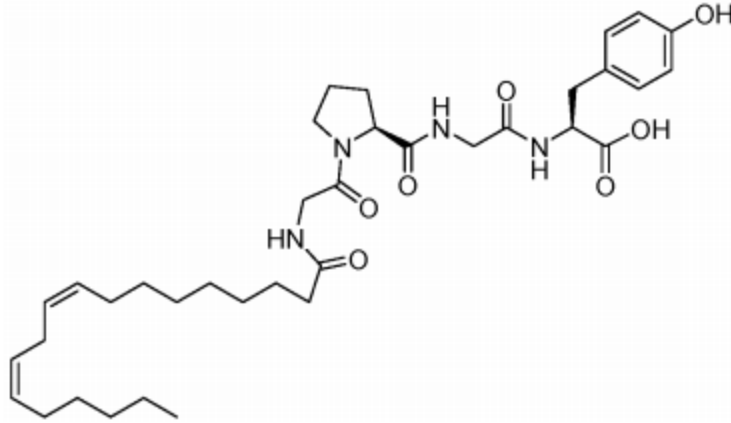
[Formula C]



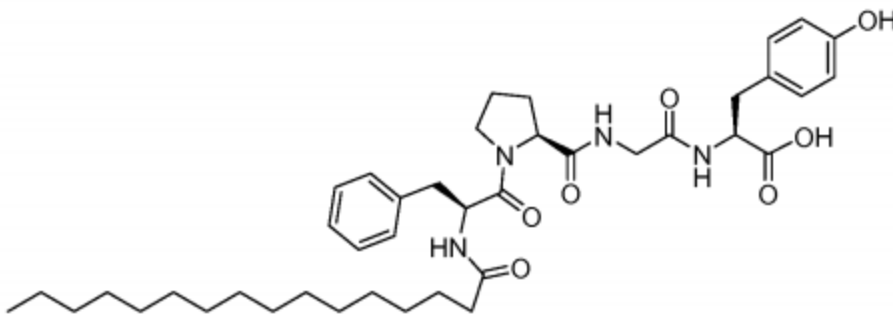
[Formula D]



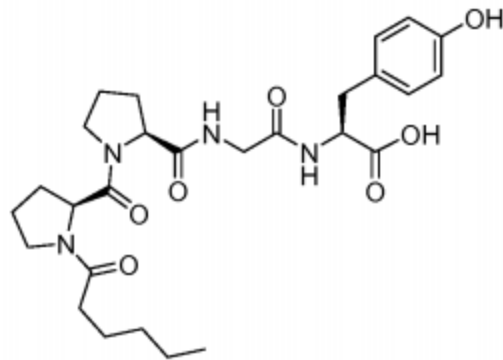
[Formula E]



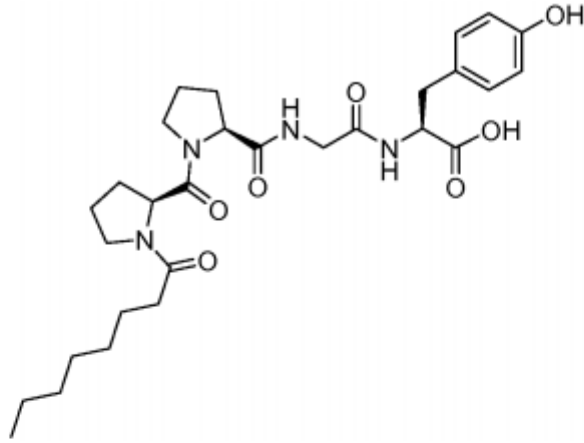
[Formula F]



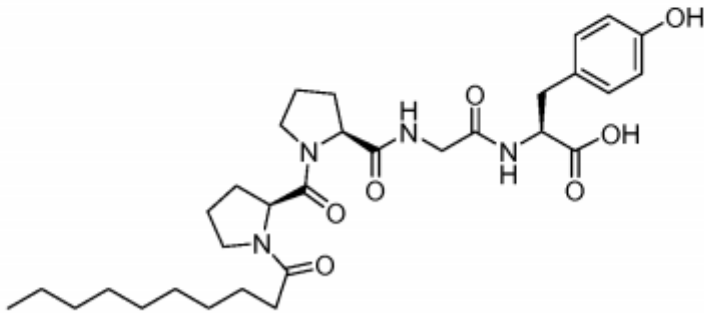
[Formula G]



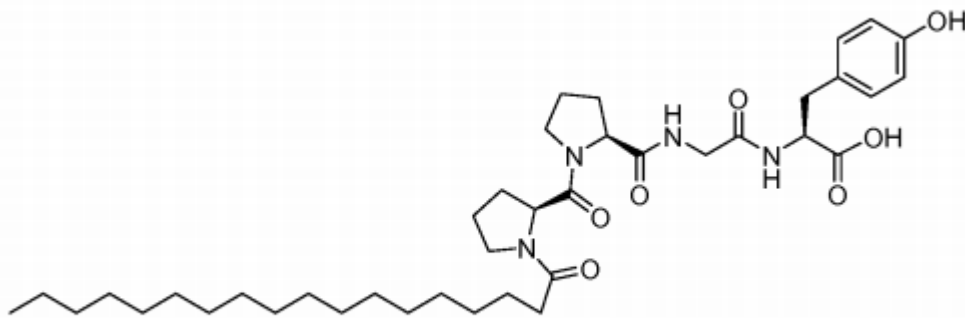
[Formula H]



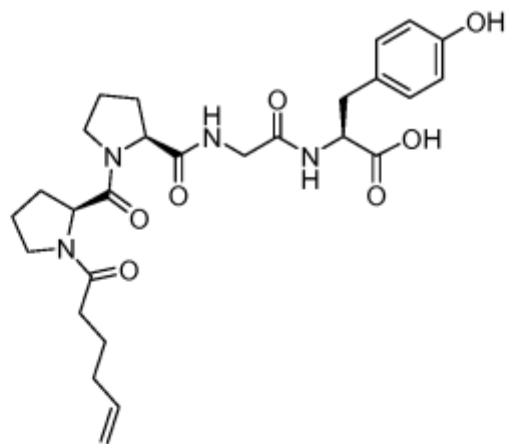
[Formula I]



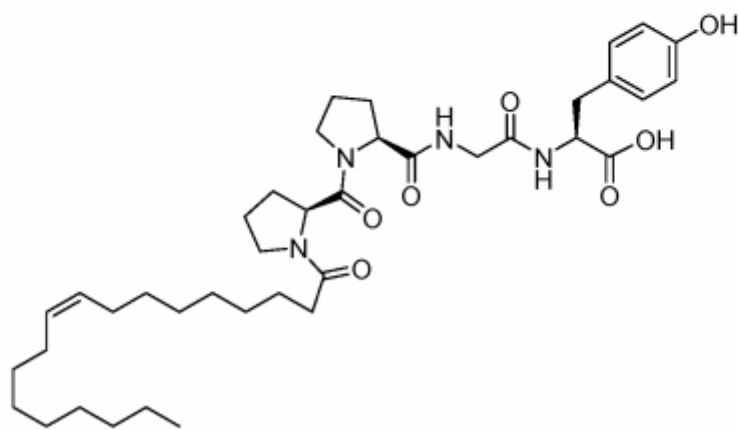
[Formula J]



[Formula K]

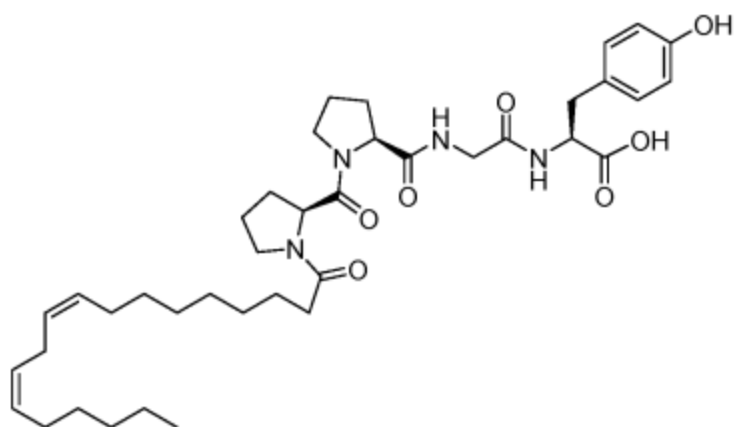


[Formula L]

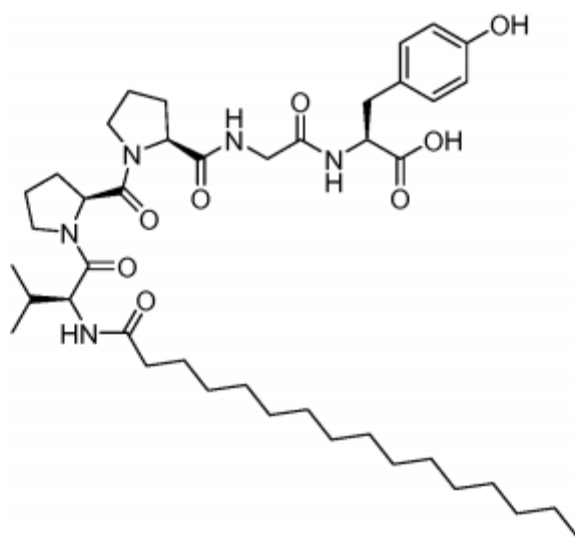


[Formula M]

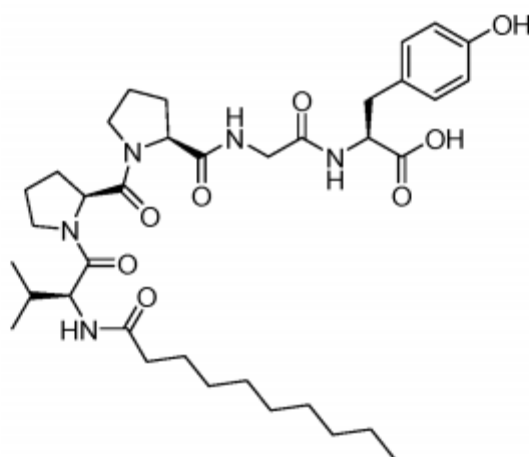




[Formula N]



[Formula O]



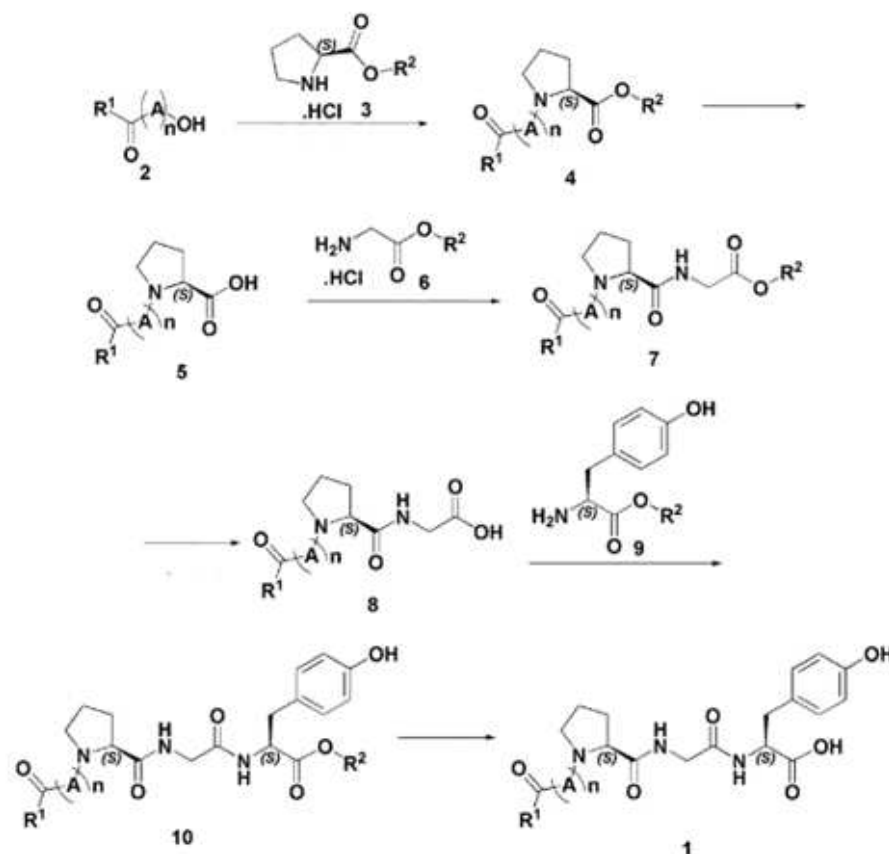
5 [0057] Los compuestos, según los modos de realización de la presente invención, son efectivos para prevenir o tratar diversas enfermedades, incluidas las indicaciones inflamatorias, los cánceres y las indicaciones oftálmicas. En particular, los compuestos son efectivos para suprimir la expresión de citoquinas y/o quimioquinas (por ejemplo, G-CSF, IL-2, SCF, VEGF, CX3CL1, IGFBP5, IGFBP6, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-9, MCP-1, MIP-3 $\alpha$ , IL12p40/70, MIG, TNF- $\alpha$ , y VCAM-1). Los compuestos también son eficaces para inhibir la descomposición de I $\kappa$ B en la vía de señalización de la inflamación mediada por MyD88 (complejo de midosoma) y/o RIP 1, evitando así que NF- $\kappa$ B sea transportado al núcleo de una célula. Además, la concentración efectiva de los compuestos en una célula/tejido objetivo permanece durante un tiempo suficiente.

### 3. Métodos de preparación

15 [0058] Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar el compuesto representado por la Fórmula 1. El método, como se ilustra en el Esquema de Reacción 1 abajo, comprende: reaccionar un compuesto 2 con un compuesto 3 para preparar un compuesto 4 (paso 1); hidrolizar el compuesto 4 en presencia de una base para preparar un compuesto 5 (paso 2); reaccionar el compuesto 5 con un compuesto 6 para preparar un compuesto 7 (paso 3); hidrolizar el compuesto 7 en presencia de una base para preparar un compuesto 8 (paso 4); reaccionar el

compuesto 8 con un compuesto 9 para preparar un compuesto 10 (paso 5); hidrolizar el compuesto 10 en presencia de una base para preparar el compuesto de la Fórmula I (paso 6).

## [Esquema de Reacción 1]



5 donde A, R<sup>1</sup> y n son los mismos que se definen en la reivindicación 1 y R<sup>2</sup> es un alquilo C<sub>1-5</sub> de cadena lineal o ramificada.

10 [0059] En algunos modos de realización, en el paso 1, el compuesto 2 puede acoplarse con el compuesto 3 en presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDCI), hidroxibenzotriazol (HOBt) y una base. La base puede ser una base orgánica o inorgánica. Ejemplos no limitativos de la base orgánica incluyen la piridina, la trietilamina (TEA), la N,N-diisopropilsetilamina (DIPEA), y el 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU). Entre los ejemplos no limitados de la base inorgánica figuran el hidróxido de sodio, el carbonato de sodio, el carbonato de potasio, el carbonato de cesio y el hidruro de sodio. Estos pueden utilizarse en forma estequiométrica o en exceso, solos o en combinación. Entre los ejemplos no limitativos del solvente que puede utilizarse para hacer reaccionar el compuesto 2 con el compuesto 3 figuran un éter (por ejemplo, el tetrahidrofurano (THF), el dioxano, el éter etílico y el 1,2-dimetoxietano), un alcohol (por ejemplo, metanol, etanol, propanol y butanol), dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), diclorometano (DCM), dicloroetano, agua, acetona, bencenosulfonato, toluensulfonato, clorobencenosulfonato, xilenosulfonato, etilacetato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, hidroxibutirato, glicolato, maleato, tartrato, metansulfonato, propanosulfonato, naftalina-1-sulfonato, naftalina-2-sulfonato y mandelato. El solvente puede utilizarse solo o en combinación.

[0060] La base del paso 2 puede ser una base orgánica o inorgánica. Asimismo, entre los ejemplos no limitativos de la base orgánica que puede utilizarse en el paso 2 se encuentran la piridina, la trietilamina, la N,N-diisopropilsetilamina (DIPEA) y el 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU). Entre los ejemplos no limitativos de la base inorgánica figuran el hidróxido de sodio, el carbonato de sodio, el carbonato de potasio, el carbonato de cesio y el hidruro de sodio.

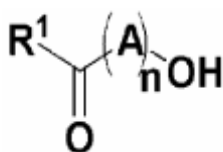
5 Estos pueden utilizarse en forma estequiométrica o en exceso, solos o en combinación. Entre los ejemplos no limitativos del solvente que puede utilizarse para hacer reaccionar el compuesto 4 con el compuesto 5 figuran un éter (por ejemplo, el tetrahidrofurano (THF), el dioxano, el éter etílico y el 1,2-dimetoxietano), un alcohol (por ejemplo, metanol, etanol, propanol y butanol), dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), diclorometano (DCM), dicloroetano, agua, acetona, bencenosulfonato, toluensulfonato, clorobencenosulfonato, xilenosulfonato, etilacetato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, hidroxibutirato, glicolato, mandelato, tartrato, metansulfonato, propanosulfonato, naftalina-1-sulfonato, naftalina-2-sulfonato y mandelato. El solvente puede utilizarse solo o en combinación.

[0061] Los pasos 3 y 5 pueden realizarse de manera idéntica o similar al paso 1. Los pasos 4 y 6 pueden realizarse de manera idéntica o similar al paso 2.

15 Preparación del compuesto 2

[0062] Los ejemplos del compuesto 2 representado por la siguiente Fórmula 2, que es el material de partida del Esquema de Reacción 1, pueden prepararse, por ejemplo, mediante el Método de Preparación A que se describe abajo.

[Formula 2]

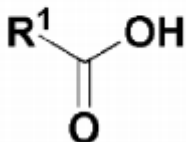


20 en el que n es 0, 1 ó 2; A es -a1-, que es un aminoácido seleccionado independientemente del grupo formado por alanina, (Ala, A), arginina (Arg, R), asparagina (Asn, N), ácido aspártico (Asp, D), cisteína (Cys, C), ácido glutámico (Glu, E), glutamina (Gln, Q), glicina (Gly, G), histidina (His, H), isoleucina (Ile, I), leucina (Leu, L), lisina (Lys, K), metionina (Met, M), fenilalanina (Phe, F), prolina (Pro, P), serina (Ser, S), treonina (Thr, T), triptófano (Trp, W), tirosina (Tyr, Y) y valina (Val, V), acoplándose ambos extremos terminales del aminoácido a un grupo carbonilo o a un grupo amina mediante un enlace amida; y R1 es un alquilo de cadena lineal o cadena ramificada C1-36, un alquilo de cadena lineal o cadena ramificada C2-36 que incluye al menos un enlace doble, o un alquilo de cadena recta o cadena ramificada C2-36 que incluye al menos un enlace triple

30 [Método de preparación A]

[0063] Un compuesto representado por la 'Fórmula a' que se muestra abajo está acoplado a un aminoácido seleccionado del grupo formado por alanina, (Ala, A), arginina (Arg, R), asparagina (Asn, N), ácido aspártico (Asp, D), cisteína (Cys, C), ácido glutámico (Glu, E), glutamina (Gln, Q), glicina (Gly, G), histidina (His, H), isoleucina (Ile, I), leucina (Leu, L), lisina (Lys, K), metionina (Met, M), fenilalanina (Phe, F), prolina (Pro, P), serina (Ser, S), treonina (Thr, T), triptófano (Trp, W), tirosina (Tyr, Y), y valina (Val, V) en presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, hidroxibenzotriazol y una base para formar un enlace de amida, preparando así el compuesto 2.

[Formula a]



(R1 es lo mismo que se define en la Fórmula 2).

#### 4. Composiciones/Formulaciones

5 [0064] Otro aspecto más de la presente invención proporciona una composición para su uso en la prevención, mejora y tratamiento de diversas enfermedades (por ejemplo, indicaciones inflamatorias, cánceres e indicaciones oftálmicas), cuya composición comprende, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales.

10 [0065] Las composiciones de acuerdo con algunos modos de realización pueden suprimir la expresión de citoquinas y/o quimioquinas, entre ellas G-CSF, IL-2, SCF, VEGF, CX3CL1, IGFBP5, IGFBP6, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-9, MCP-1, MIP-3 $\alpha$ , IL12p40/70, MIG, TNF- $\alpha$ , y VCAM-1. Las composiciones de acuerdo con otros modos de realización pueden suprimir la actividad de NF- $\kappa$ B. Las composiciones de acuerdo con otros modos de realización pueden inhibir la formación de un complejo de transducción de señales inflamatorias mediado por MyD88. Las composiciones de acuerdo con otros modos de realización pueden inhibir la formación de un complejo de transducción de señales inflamatorias mediado por RIP1. Las composiciones de acuerdo con otros modos de realización pueden inhibir la formación de un complejo de transducción de señales inflamatorias mediado por Pellino-1.

20 [0066] En algunos modos de realización, la presente invención proporciona una composición para su uso en la prevención, mejora y tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino (incluidos trastornos estrechamente relacionados), que comprende, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales. La enfermedad inflamatoria del intestino puede incluir, entre otras, la colitis ulcerosa, la enfermedad de Behcet y la enfermedad de Crohn. La composición puede incluir además un aditivo.

25 [0067] En algunos modos de realización, la presente invención proporciona una composición para su uso en la prevención, mejora o tratamiento de una enfermedad o síndrome, que comprende, como componente activo, el compuesto anterior, el isómero óptico o la sal del mismo, en el que la enfermedad o síndrome incluye esclerosis múltiple, psoriasis, sepsis, enfermedades infecciosas pulmonares, neumonía bacteriana, neumonía viral, linfoma difuso de células grandes  $\beta$ , infección viral, enfermedad autoinmune, cáncer de la sangre, incluido el linfoma, y tumores en órganos internos.

30 [0068] Aunque no forma parte de la presente invención, se describe más adelante una composición para prevenir, mejorar o tratar la alopecia, que comprende, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales, en la que el componente activo inhibe la expresión de IL-6 en el cuero cabelludo y los folículos pilosos.

35 [0069] Aunque no forman parte de la presente invención, se describen más adelante formulaciones adecuadas para la administración de los compuestos descritos en el presente documento. Los compuestos descritos en el presente documento pueden estar en formulaciones (incluidas composiciones farmacéuticas) con aditivos tales como excipientes (por ejemplo, uno o más excipientes), antioxidantes (por ejemplo, uno o más antioxidantes), estabilizadores (por ejemplo, uno o más estabilizadores), conservantes (por ejemplo, uno o más conservantes), agentes de ajuste de pH y/o agentes tampón (por ejemplo, uno o más agentes de ajuste de pH y/o agentes tampón), agentes de ajuste de tonicidad (por ejemplo, uno o más agentes ajustadores de tonicidad), agentes espesantes (por ejemplo, uno o más agentes espesantes), agentes de suspensión (por ejemplo, uno o más agentes de suspensión), agentes aglutinantes (por ejemplo, uno o más agentes aglutinantes), agentes que aumentan la viscosidad (por ejemplo, uno o más agentes que aumentan la viscosidad) y similares, siempre que los componentes adicionales sean aceptables desde el punto de vista farmacéutico para la condición particular que se va a tratar. En algunos modos de realización, la

formulación puede incluir combinaciones de dos o más de los componentes adicionales descritos en el presente documento (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más componentes adicionales). En algunos modos de realización, los aditivos incluyen agentes de procesado y modificadores y potenciadores de la administración de las drogas, como, por ejemplo, el fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, dextrosa, hidroxipropil-beta-ciclodextrina, polivinilpirrolidiona, ceras de bajo punto de fusión, resinas de intercambio iónico y similares, así como combinaciones de dos o más de los mismos. Otros excipientes farmacéuticamente aceptables se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Pub. Co., Nueva Jersey (1991), y "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, 20ª edición (2003) y 21ª edición (2005).

[0070] En la invención se incluyen formulaciones de las composiciones farmacéuticas apropiadas para su administración por cualquier medio médicamente aceptable. Las formulaciones farmacéuticas pueden comprender un portador farmacéuticamente aceptable apropiado para el medio de administración y un compuesto (composición) farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, las formulaciones de la composición descritas en el presente documento pueden ser adecuadas para la administración oral. Pueden formarse en varias formas, entre ellas soluciones, suspensiones, semilíquidos, semisólidos, geles, emulsiones, pomadas, comprimidos y cremas. Las formas de comprimidos pueden incluir una o más de lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, fosfatos de calcio, almidón de maíz, almidón de patata, celulosa microcristalina, gelatina, dióxido de silicio coloidal, talco, estearato de magnesio, ácido esteárico y otros excipientes, colorantes, rellenos, aglutinantes, diluyentes, agentes tampón, humectantes, conservantes, aromatizantes, colorantes, agentes desintegradores y portadores compatibles con los productos farmacéuticos.

[0071] Las composiciones (formulaciones) pueden ser administradas por muchas vías incluyendo, sin limitarse a, las vías oral, nasal, pulmonar, rectal, bucal, vaginal, ocular y transdérmica. El modo, la frecuencia y la cantidad efectiva de administración de las composiciones (formulaciones) pueden decidirse de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica y/o los métodos descritos en el presente documento (por ejemplo, administración oral, 0,1-1.000 mg/día, una vez al día). Por ejemplo, pueden administrarse solas o en combinación. Por ejemplo, pueden administrarse de manera concurrente, coadministrada y/o intermitente.

#### 5. Métodos de utilización de compuestos, composiciones o formulaciones

[0072] Otra descripción más detallada, pero que no forma parte de la presente invención, es un método para prevenir, mejorar o tratar diversas enfermedades (por ejemplo, indicaciones inflamatorias, cánceres e indicaciones oftálmicas), que comprende la administración a un sujeto necesitado de la composición (o el compuesto o la formulación descritos en el presente documento).

[0073] Se describe un método para prevenir, mejorar o tratar la enfermedad inflamatoria del intestino, que consiste en administrar a un sujeto necesitado la composición (o el compuesto o la formulación aquí descritos) que contiene, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales.

[0074] Se prevé además un método para prevenir, mejorar o tratar las enfermedades o los síntomas, que consiste en administrar a un sujeto necesitado una composición que contenga, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales. La enfermedad o el síndrome pueden implicar la formación de un complejo de transducción de señales inflamatorias inducidas por Pellino-1 que contenga MyD88, RIP1, o ambos. La enfermedad o síndrome puede incluir, entre otros, esclerosis múltiple, psoriasis, sepsis, atrofia geográfica, enfermedad macular húmeda relacionada con la edad, enfermedad macular seca relacionada con la edad, retinopatía diabética, enfermedades infecciosas pulmonares, neumonía bacteriana, neumonía viral, linfoma difuso de células grandes  $\beta$ , infección viral, enfermedad autoinmune, cáncer de la sangre, incluido el linfoma, y tumores en órganos internos (por ejemplo, hígado, pulmón, intestino, próstata, páncreas y similares).

[0075] Se describe además un método para prevenir, mejorar o tratar la atrofia geográfica, la enfermedad macular húmeda relacionada con la edad, la enfermedad macular seca relacionada con la edad o la retinopatía diabética, método que consiste en administrar a un sujeto necesitado una composición que contenga, como componente activo, al menos uno de los compuestos, al menos uno de los isómeros ópticos o al menos una de las sales. El compuesto o compuestos, el isómero o isómeros ópticos y la sal o sales pueden tener un efecto farmacéutico en las células del epitelio del pigmento de la retina. En las células del epitelio pigmentario de la retina, pueden inhibir la expresión de al menos una proteína seleccionada del grupo formado por Nox-4, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, Ang2,

EPO y EPOR. En las células del epitelio pigmentario de la retina, pueden aumentar la expresión de Ang 1, Tie2, o ambas.

#### Ejemplos

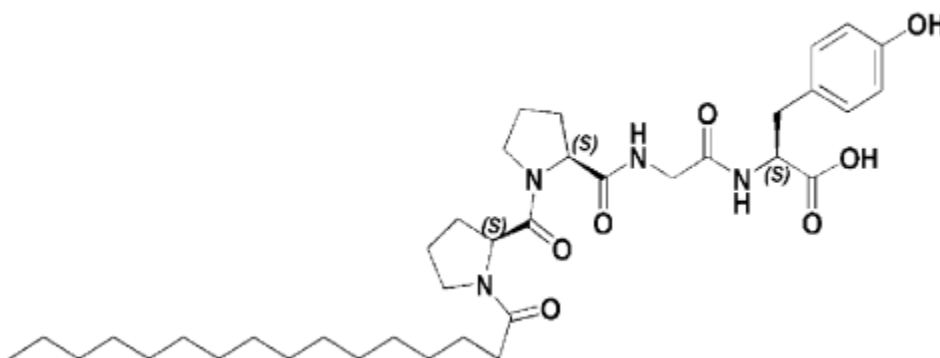
5 [0076] La presente invención se explicará con más detalle con los siguientes ejemplos. Los ejemplos se presentan únicamente con el fin de ilustrar la presente invención y la presente invención no se limitará a los ejemplos.

#### Ejemplo 1: Preparación de compuestos

Ejemplo 1.1: (S)-3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acetamido)ácido propanoico (Pal-PPGY-OH)

[0077]

10



#### Paso 1: Preparación de (S)-metil 1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxilato

15 [0078] Se hizo una solución de mezcla mezclando (S)-1-palmitoilpirrolidina-2-ácido carboxílico (10,0 g, 28,3 mmol) preparado en el paso 2 del ejemplo 1.2, EDCI (5,96 g, 31,1 mmol), HOBt (4,20 g, 31,1 mmol) y trietilamina (11,8 mL, 84,9 mmol) en diclorometano. Se añadió clorhidrato de éster metílico de prolina (5,15 g, 31,1 mmol) a la solución de mezcla. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con solución acuosa de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con una solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La resultante se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró bajo presión reducida para obtener el (S)-metil 1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxilato (11,4 g, rendimiento del 87%).

20 <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4,69-4,65 (m, 1 H), 4,54-4,58 (m, 1 H), 3,83-3,93 (m, 1 H), 3,58-3,72 (m, 5H), 3,45-3,53 (m, 1 H), 1,89-2,31 (m, 10 H), 1,60-1,64 (m, 2 H), 1,25 (m, 24 H), 0,88 (t, J = 6,87Hz, 3 H).

MS (ESI), calculado para C<sub>27</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 464,4, se encontró m/z465,2 (M + H<sup>+</sup>).

#### Paso 2: Preparación del ácido (S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxílico

25 [0079] El tetrahidrofurano se mezcló con el 1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxilato de (S)-metilo (15,0 g, 32,3 mmol) preparado en el paso 1. Se añadió a la solución de la mezcla una solución acuosa de hidróxido de sodio (2,58 g, 64,6 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió HCl 1N para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa de la misma se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener el ácido (S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxílico (13,2 g, rendimiento del 91%) como sólido blanco. MS (ESI), calculado para C<sub>26</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 450,3, se encontró m/z451,1 (M + H<sup>+</sup>).

#### Paso 3: Preparación del acetato de etilo 2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)

[0080] El ácido (S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxílico (12 g, 26,6 mmol) preparado en el paso 2 se mezcló con diclorometano. Se añadió a la solución de la mezcla clorhidrato de éster etílico de glicina (4,09 g, 29,3 mmol), EDCI (5,62 g, 29,3 mmol), HOBt (3,96 g, 29,3 mmol) y trietilamina (11,1 mL, 79,8 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener acetato de etilo 2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxiamido) (11,1 g, rendimiento del 78%).

MS (ESI), calculado para  $C_{30}H_{53}N_3O_5$  535,4, se encontró  $m/z$ 536,5 ( $M + H^+$ ).

10 Paso 4: Preparación del ácido 2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acético

[0081] El acetato de etilo 2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxiamido) preparado en el paso 3 se mezcló con tetrahidrofurano. Se añadió a la solución de la mezcla/la mezcla-solución una solución acuosa de hidróxido de sodio (1,79 g, 44,8 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió HCl 1N para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener ácido 2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acético (9,5 g, rendimiento del 84%). MS (ESI), calculado para  $C_{28}H_{49}N_3O_5$  507,4, se encontró  $m/z$ 508,2 ( $M + H^+$ ).

Paso 5: Preparación de (S)-metil 3(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acetamido)propanoato

20 [0082] El ácido acético 2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acético (10 g, 19,7 mmol) preparado en el paso 4 se mezcló con diclorometano. Se añadieron a la solución de la mezcla el éster metílico de tirosina (4,23 g, 21,7 mmol), EDCI (4,16 g, 21,7 mmol), HOBt (21,7 g, 21,7 mmol) y trietilamina (8,19 mL, 59,1 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con solución acuosa de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro, se concentró y se purificó con MPLC para obtener (S)-metil 3(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acetamido)propanoato (8,4 g, rendimiento 62%). MS (ESI), calculado para  $C_{37}H_{60}N_4O_7$  684,4, se encontró  $m/z$ 685,2 ( $M + H^+$ ).

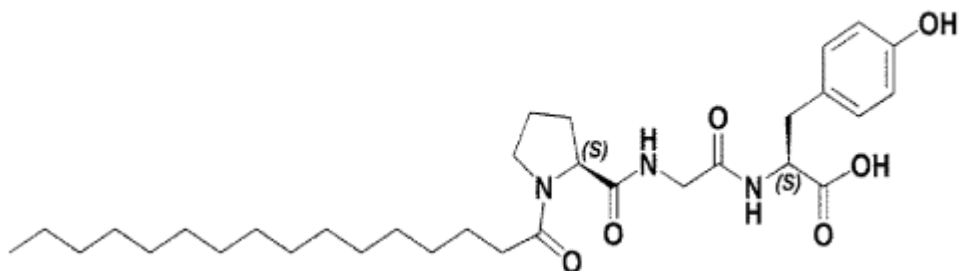
30 Paso 6: Preparación del ácido (S)-3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acetamido)propanoico

[0083] 3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acetamido)propanoato de (S)-metilo (4,9 g, 7,16 mmol) preparado en el paso 5 se mezcló con tetrahidrofurano. Se añadió a la solución de la mezcla una solución acuosa de hidróxido de sodio (0,86 g, 21,5 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió HCl 1N para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener ácido (S)-3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carbonil)pirrolidina-2-carboxamido)acetamido)propanoico (4,5 g, rendimiento del 93%).  $^1H$ -NMR(300 MHz, MeOD)  $\delta$  7,04 (d, J = 8,31 Hz, 2 H) 6,70 (d, J = 8,37 Hz, 2 H), 4,38-4,68 (m, 3 H), 3,44-4,04 (m, 6 H), 2,91-3,13 (m, 2 H), 1,81-2,38 (m, 10 H), 1,54-1,60 (m, 2 H), 1,30 (m, 24 H), 0,88 (t, J = 6,63 Hz, 3 H). MS (ESI), calculado para  $C_{37}H_{58}N_4O_7$  670,4, se encontró  $m/z$ 671,3 ( $M + H^+$ ).

Ejemplo 1.2: (S)-3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido)acetamido)ácido propanoico (Pal-PGY-OH)

[0084]





Paso 1: (S)-metil 1-palmitoilpirrolidina-2-carboxilato

5 [0085] El ácido palmítico (7 g, 27,3 mmol), el EDCI (5,78 g, 30,0 mmol), el HOBt (4,05 g, 30,0 mmol) y la trietilamina (11,4 mL, 81,9 mmol) se mezclaron con diclorometano. Se añadió clorhidrato de éster metílico de prolina (4,97 g, 30,0 mmol) a la solución de la mezcla. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró a/bajo presión reducida, se diluyó con una solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró bajo presión reducida para obtener (S)-metil 1-palmitoilpirrolidina-2-carboxilato (9,6 g, rendimiento del 96%) como líquido viscoso. 1H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4,46-4,50 (m, 1 H), 3,47-3,75 (m, 5 H), 1,90-2,36 (m, 6 H), 1,59-1,69 (m, 2 H), 1,25(m, 24 H), 0,88 (t, J = 6,84 Hz, 3 H) MS (ESI), calculado para C<sub>22</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>3</sub> 367,3, se encontró m/z368 (M + H<sup>+</sup>).

Paso 2: Preparación del ácido (S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carboxílico

15 [0086] El 1-palmitoilpirrolidina-2-carboxilato de (S)-metilo (10,0 g, 27,2 mmol) preparado en el paso 1 se mezcló con tetrahidrofurano. Se añadió a la solución de la mezcla una solución acuosa de hidróxido de sodio (3,26 g, 81,6 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió 1N HCl para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener ácido (S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carboxílico (8,6 g, rendimiento del 89%) como sólido blanco. 1H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4,59-62 (m, 1 H), 3,42-3,59 (m, 2 H), 2,46-2,53 (m, 1 H), 2,33-2,38 (m, 2 H), 1,93-2,01 (m, 3 H), 1,62-1,69 (m, 2 H), 1,25 (m, 24 H), 0,88 (t, J = 6,90 Hz, 3 H) MS (ESI), calculado para C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>3</sub> 353,3, se encontró m/z354,2 (M + H<sup>+</sup>).

Paso 3: preparación de acetato de (S)-etilo 2-(1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido)-acetato

25 [0087] (S)-1-palmitoilpirrolidina-2-ácido carboxílico (10 g, 28,3 mmol) preparado en el paso 2, el clorhidrato de éster etílico de glicina (4,34 g, 31,1 mmol), el EDCI (5,76 g, 31,1 mmol), el HOBt (4,20 g, 31,1 mmol) y la trietilamina (1,5,7 mL, 113 mmol) se mezclaron con diclorometano. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con una solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener acetato de (S)-etilo 2-(1 palmitoilpirrolidina-2-carboxamido) (10,7 g, rendimiento del 86%).MS (ESI), calculado para C<sub>25</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 438,3, se encontró m/z439,1 (M + H<sup>+</sup>).

Paso 4: Preparación del ácido (S)-2-(1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido)acético

35 [0088] El acetato de 2-(S)-etil-2(1- palmitoilpirrolidina-2-carboxamido) (12 g, 27,4 mmol) preparado en el paso 3 se mezcló con tetrahidrofurano. Se añadió a la solución de la mezcla una solución acuosa de hidróxido de sodio (2,20 g, 54,7 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió HCl 1N para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener ácido (S)-2-(1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido)acético (10,2 g, rendimiento del 91%) como sólido blanco. MS (ESI), calculado para C<sub>23</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 410,3, se encontró m/z 411,3 (M + H<sup>+</sup>).

Paso 5: Preparación de (S)-metil 3(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-palmitoilpirrolidina -2-carboxamido)acetamido)propanoato

5 [0089] El ácido (S)-2-(1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido) acético (7 g, 27,3 mmol) preparado en el paso 4 se mezcló con diclorometano. Se añadieron a la solución de la mezcla el éster metílico de tirosina (5,86 g, 30,0 mmol), EDCI (5,78 g, 30,0 mmol), HOBt (4,05 g, 30,0 mmol) y trietilamina (11,4 mL, 81,9 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con solución acuosa de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro, se concentró y se purificó con MPLC para obtener (S)-metil 3(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido) acetamido)propanoato (9,8 g, rendimiento del 61%). 1H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,25-7,50 (m, 3 H), 6,93 (d, J = 8,34 Hz, 2 H) 6,70 (d, J = 8,34 Hz, 2 H), 4,70-4,77 (m, 1 H), 4,39-4,43 (m, 1 H), 3,95-4,21 (m, 1 H), 3,41-3,72 (m, 5 H), 2,92-3,12 (m, 2 H), 1,91-2,35 (m, 7 H), 1,57-1,61 (m, 2 H), 1,25 (m, 24 H), 0,88 (t, J = 6,87 Hz, 3 H). MS (ESI), calculado para C<sub>33</sub>H<sub>53</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> 587,4, se encontró m/z588,1 (M + H<sup>+</sup>).

15 Paso 6: Preparación del ácido (S)-3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-palmitoilpirrolidina -2-carboxamido)acetamido) propanoico

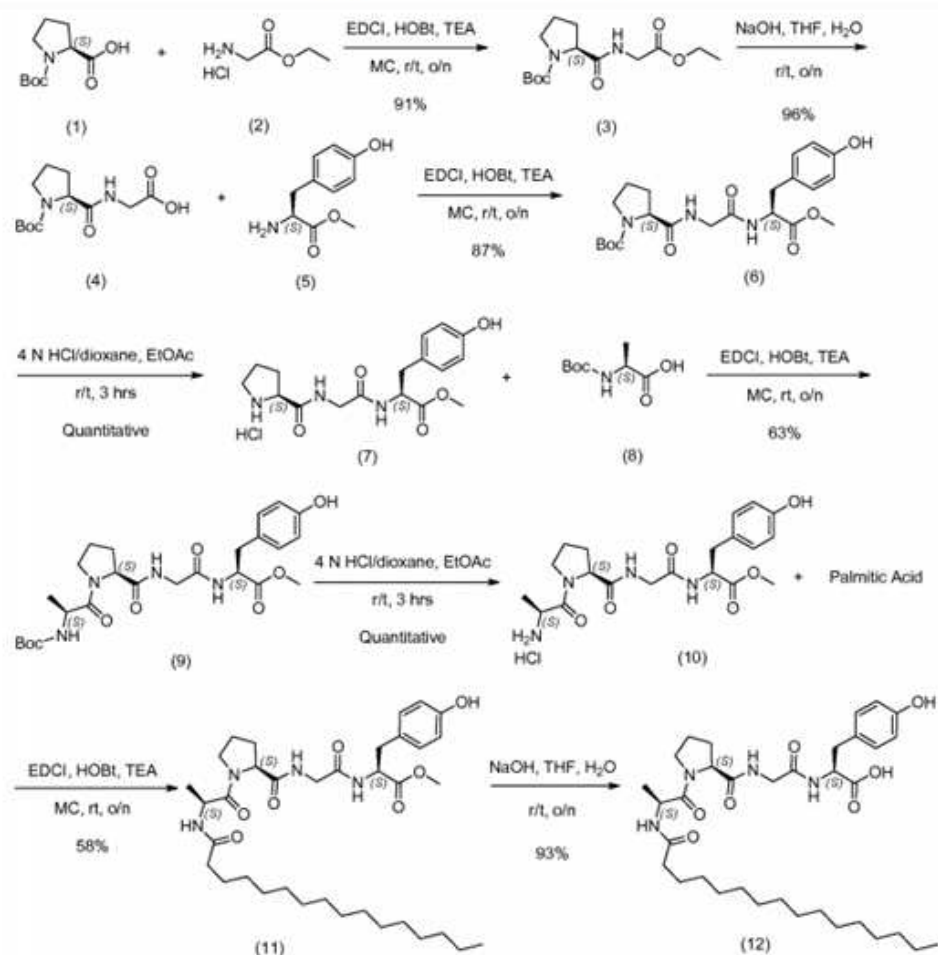
20 [0090] El 3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido) acetamido) propanoato de (S)-metilo (2,85 g, 4,85 mmol) preparado en el paso 5 se mezcló con tetrahidrofurano. Se añadió a la solución de la mezcla una solución acuosa de hidróxido de sodio (0,58 g, 14,6 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió HCl 1N para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener ácido (S)-3-(4-hidroxifenil)-2-(2-((S)-1-palmitoilpirrolidina-2-carboxamido) acetamido)propanoico (2,2 g, rendimiento del 79%) como sólido blanco.

25 1H-NMR(300 MHz, MeOD) δ 7,03 (d, J = 8,40 Hz, 2 H) 6,70 (d, J = 8,40 Hz, 2 H), 4,58-4,61 (m, 1 H), 4,33-4,56 (m, 1 H), 3,58-4,37 (m, 4 H), 2,96-3,15 (m, 2 H), 1,92-2,39 (m, 6 H), 1,55-1,62 (m, 2 H), 1,29 (m, 24 H), 0,91 (t, J = 6,87 Hz, 3 H). MS (ESI), calculado para C<sub>32</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> 573,4, se encontró m/z574,2(M + H<sup>+</sup>).

Ejemplo 1.3: Palmitoil-L-alanil-L-prolil-glicil-L-tirosina (pal-APGY-OH)

[0091] El compuesto se preparó de acuerdo con el siguiente Esquema de Reacción 2.

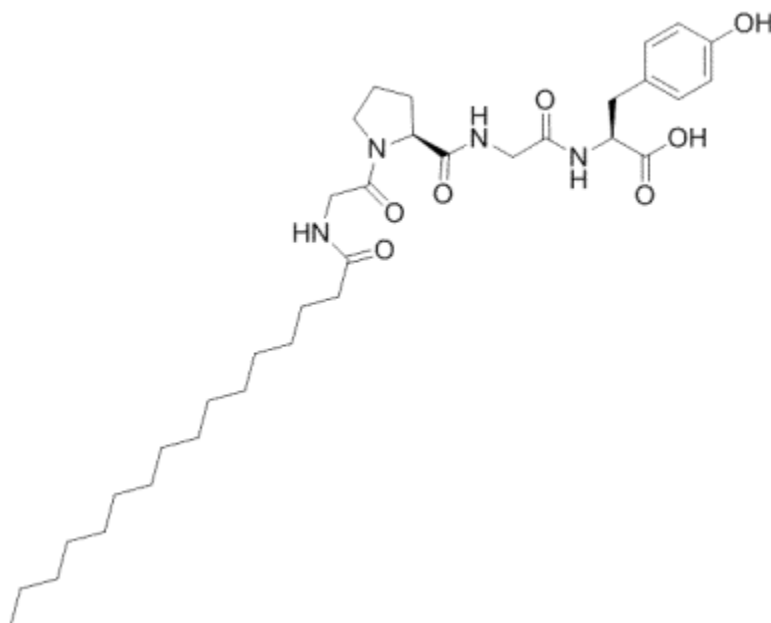
## [Esquema de Reacción 2]



5 [0092] El compuesto (1) (10 g, 46,5 mmol), el compuesto (2) (7,15 g, 51,2 mmol), EDCI-HCl (9,82 g, 51,2 mmol), HOBT (6,92 g, 51,2 mmol), y la trietilamina (19,4 mL, 140 mmol) se mezclaron con diclorometano. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con una solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto (3) (rendimiento del 91%) como líquido viscoso. LC-MS (ESI): calculado para C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 300,2, se encontró m/z 301,2 (M + H<sup>+</sup>).

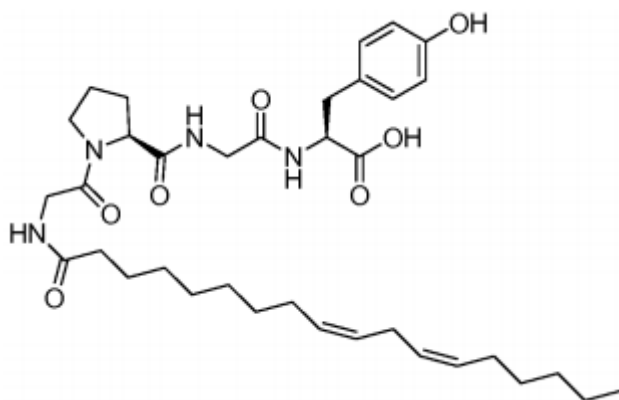
10 [0093] El compuesto (3) (12g, 40 mmol) fue mezclado con tetrahidrofurano. Se añadió a la solución de la mezcla una solución acuosa de hidróxido de sodio (6,40 g, 160 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió HCl 1N para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener el compuesto (4) (rendimiento del 96%) como sólido blanco. LC-MS (ESI): calculado para C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 272,1, se encontró m/z 273,1 (M + H<sup>+</sup>).

- 5 [0094] El compuesto (4) (6,25g, 23 mmol), el compuesto (5) (4,85 g, 25,3 mmol), EDCI-HCl (4,85 g, 25,3 mmol), HOBT (43,42 g, 25,3 mmol), y la trietilamina (TEA, 12,8 mL, 96 mmol) se mezclaron con diclorometano. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con una solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución acuosa de carbonato de sodio dos veces, se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener el compuesto (6) (rendimiento del 87%) como sólido blanco. LC-MS (ESI): calculado para  $C_{22}H_{31}N_3O_7$  449,2, se encontró m/z 450,2 ( $M + H^+$ ).
- 10 [0095] El compuesto (6) (8 g, 17,8 mmol) se disolvió en acetato de etilo. Se añadió una cantidad excesiva de 4 N HCl en dioxano a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas y se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto (7) como sólido blanco. LC-MS (ESI): Calculado para  $C_{17}H_{23}N_3O_5$  349,2, se encontró m/z 350,2 ( $M + H^+$ ).
- 15 [0096] El compuesto (7) (0,25 g, 0,65 mmol), el compuesto (8) (Boc-alanina, 0,12 g, 0,65 mmol), EDCI-HCl (0,25 g, 1,30 mmol), HOBT (0,18 g, 1,30 mmol), y trietilamina (0,36 mL, 2,60 mmol) se mezclaron con diclorometano. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con una solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución acuosa de bicarbonato de sodio dos veces, se lavó con solución salina y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro, se concentró y se purificó utilizando MPLC (diclorometano/2-propanol) para obtener el compuesto (9) (rendimiento del 3%). LC-MS (ESI): calculado para  $C_{25}H_{36}N_4O_8$  520,3, encontrado m/z 520,7 ( $M + H^+$ ).
- 20 [0097] El compuesto (9) (0,11 g, 0,21 mmol) se disolvió en acetato de etilo. Se añadió una cantidad excesiva de 4 N HCl en dioxano a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla resultante se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto (10) como sólido blanco. LC-MS (ESI): Calculado para  $C_{20}H_{28}N_4O_6$  420,2, se encontró m/z 420,6 ( $M + H^+$ ).
- 25 [0098] A una solución de ácido palmítico (0,02 g, 0,08 mmol) en diclorometano se le añadió el compuesto (10) (0,04 g, 0,09 mmol), EDCI.HCl (0,03 g, 0,16 mmol), HOBT (0,02 g, 0,16 mmol), y trietilamina (0,04 mL, 0,32 mmol). La resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró bajo presión reducida, se diluyó con una solución acuosa de carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se lavó con solución salina, y se lavó con 1N HCl tres veces. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio anhidro, se concentró y se purificó utilizando MPLC (diclorometano/2-propanol) para obtener el compuesto (11) (rendimiento 58%). LC-MS (ESI): calculado para  $C_{36}H_{58}N_4O_7$  658,4, se encontró m/z 659,1 ( $M + H^+$ ).
- 30 [0099] El compuesto (11) (0,03 g, 0,05 mmol) fue mezclado con tetrahidrofurano. Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio (0,008 g, 0,20 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró. Se añadió HCl 1N para ajustar el pH a 1,0. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces. Toda la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener el compuesto (12) (rendimiento 93%) como sólido blanco.  $^1H$  RMN (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  7,05 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 6,70 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 4,59-4,65 (m, 2 H), 4,39-4,41 (m, 1 H), 3,96-3,99 (m, 1 H), 3,84-3,89 (m, 1 H), 3,65-3,76 (m, 2 H), 3,10-3,14 (m, 1 H), 2,97-3,01 (m, 1 H), 2,20-2,24 (m, 3 H), 2,09-2,14 (m, 1 H), 1,96-2,03 (m, 2 H), 1,58-1,60 (m, 3 H), 1,31-1,36 (m, 30 H), 0,92 (t, J= 7,15 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para  $C_{35}H_{56}N_4O_7$  644,4, se encontró m/z 644,6 ( $M + H^+$ ).
- 40 [0100] Los compuestos de los ejemplos 1.4 a 1.15 se prepararon de la misma manera que se describe en el ejemplo 1.3, utilizando el compuesto (7) como material de partida. A continuación se muestran los datos de RMN de esos compuestos.



[0101] Ejemplo 1.4: Palmitoiliglicol-L-prolil-glicil-L-tirosina (pal-GPGY-OH) 1H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7,03 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 6,70 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 4,58-4,63 (m, 1 H), 4,39-4,42 (m, 1 H), 3,90-4,08 (m, 4 H), 3,59-3,74 (m, 3 H), 3,09-3,12 (m, 1 H), 2,96-3,00 (m, 1 H), 1,99-2,31 (m, 7 H), 1,56-1,66 (m, 3 H), 1,24-1,35 (m, 26 H), 0,92 (t, J = 7,05 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>34</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 630,4, se encontró m/z 630,8 (M + H<sup>+</sup>).

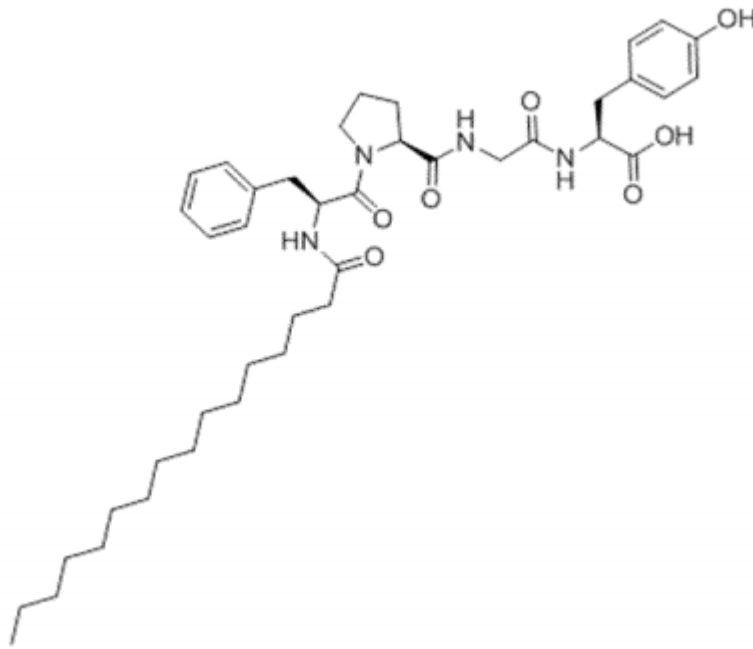
5



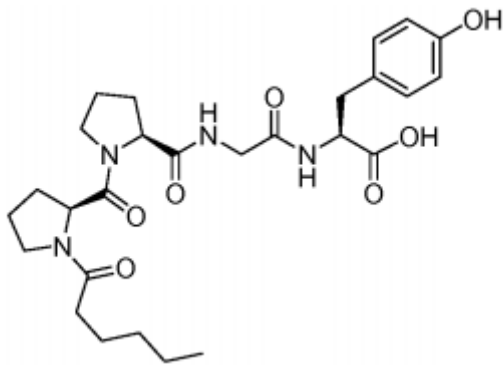
10

[0102] Ejemplo 1.5: ((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoyl)glicilo-L-prolicilo-L-tirosina (linoleil-GPGY-OH) 1H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7,03 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 5,31-5,41 (m, 4 H), 4,58-4,62 (m, 1 H), 4,39-4,42 (m, 1 H), 3,99-4,08 (m, 2 H), 3,70-3,73 (m, 1 H), 3,59-3,67 (m, 1 H), 3,09-3,12 (m, 1 H), 2,96-3,00 (m, 1 H), 2,78-2,79 (m, 3 H), 2,25-2,31 (m, 1 H), 2,18-2,22 (m, 2 H), 1,99-2,13 (m, 7 H), 1,56-1,64 (m, 3 H), 1,31-1,42 (m, 18 H), 0,93 (t, J = 7,10 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 654,4, se encontró m/z 655 (M + H<sup>+</sup>).

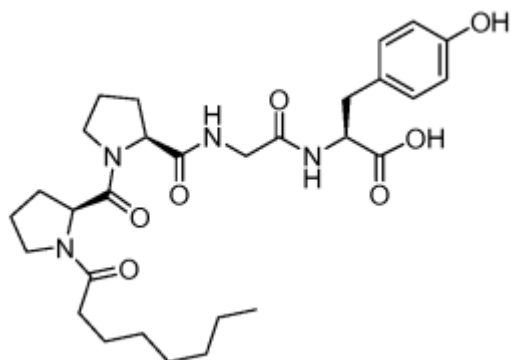
15



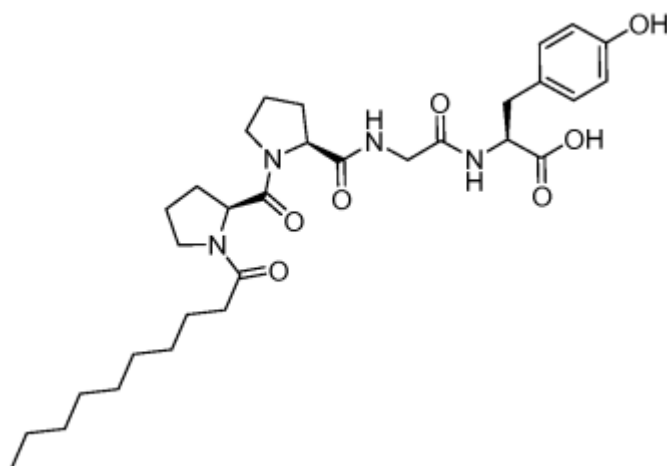
5 [0103] Ejemplo 1.6: Palmitoil-L-fenilalanil-L-prolil-glicil-L-tirosina (pal-FPGY-OH) 1H RMN (500 MHz, CD3OD)  $\delta$  7,27-7,28 (m, 5 H), 7,07 (d, J = 8,45 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,30 Hz, 2 H), 4,59-4,63 (m, 1 H), 4,40-4,42 (m, 1 H), 3,99-4,02 (m, 1 H), 3,85-3,89 (m, 1 H), 3,73-3,78 (m, 1 H), 3,52-3,55 (m, 1 H), 3,09-3,16 (m, 2 H), 2,86-3,02 (m, 3 H), 1,95-2,22 (m, 8 H), 1,44-1,62 (m, 4 H), 1,31 (m, 25 H), 0,92 (t, J = 7,10 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>41</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 720,4, se encontró m/z 721,1 (M + H<sup>+</sup>).



10 [0104] Ejemplo 1.7: Hexanoil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-tirosina (hexanoil-PPGY-OH) 1H NMR (500 MHz, CD3OD)  $\delta$  7,05 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 6,70 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 4,66-4,68 (m, 1 H), 4,54-4,57 (m, 1 H), 4,40-4,44 (m, 1 H), 3,96-4,00 (m, 1 H), 3,85-3,89 (m, 1 H), 3,73-3,76 (m, 1 H), 3,51-3,68 (m, 3 H), 3,08-3,12 (m, 1 H), 2,97-3,02 (m, 1 H), 2,31-2,41 (m, 2 H), 2,20-2,29 (m, 2 H), 1,92-2,12 (m, 5 H), (m, 8 H), 1,57-1,66 (m, 3 H), 1,31-1,38 (m, 5 H), 0,93 (t, J = 7,00 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 530,3, se encontró m/z 530,7 (M + H<sup>+</sup>).

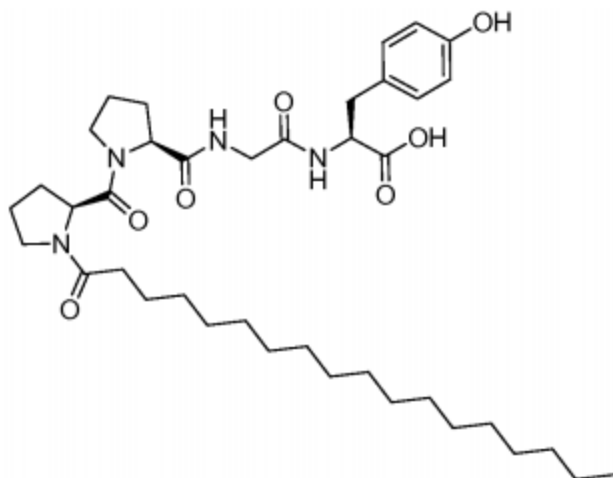


5 [0105] Ejemplo 1.8: Octanoil-L-prolil-L-prolil-glicil—L-tirosina (octanoil-PPGY-OH) 1H RMN (500 MHz, CD3OD)  $\delta$  7,05 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 4,66-4,68 (m, 1 H), 4,54-4,57 (m, 1 H), 4,40-4,42 (m, 1 H), 3,96-4,00 (m, 1 H), 3,85-3,89 (m, 1 H), 3,73-3,77 (m, 1 H), 3,51-3,68 (m, 3 H), 3,08-3,12 (m, 1 H), 2,97-3,02 (m, 1 H), 2,18-2,34 (m, 4 H), 1,92-2,12 (m, 5 H), 1,57-1,61 (m, 2 H), 1,32-1,35 (m, 10 H), 0,92 (t, J = 7,00 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 558,3, se encontró m/z 558,5 (M + H<sup>+</sup>).

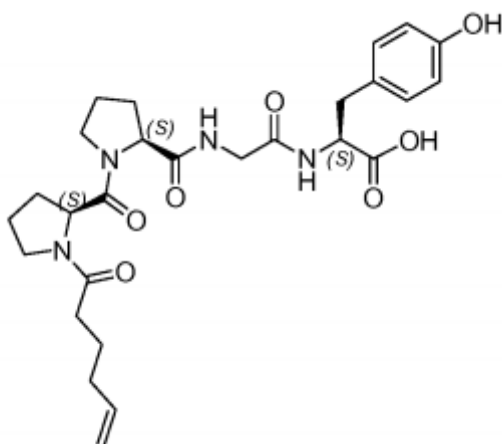


10 [0106] Ejemplo 1.9: Decanoil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-tirosina (decanoil-PPGY-OH) 1H RMN (500 MHz, CD3OD)  $\delta$  7,03 (d, J = 8,55 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,40 Hz, 2 H), 4,66-4,68 (m, 1 H), 4,54-4,57 (m, 1 H), 4,40-4,42 (m, 1 H), 3,96-4,00 (m, 1 H), 3,85-3,89 (m, 1 H), 3,73-3,77 (m, 1 H), 3,51-3,68 (m, 3 H), 3,08-3,12 (m, 1 H), 2,97-3,02 (m, 1 H), 2,18-2,39 (m, 5 H), 1,92-2,14 (m, 6 H), 1,57-1,61 (m, 2 H), 1,32-1,36 (m, 14 H), 0,92 (t, J = 7,15 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 586,3, se encontró m/z 586,8 (M + H<sup>+</sup>).

15

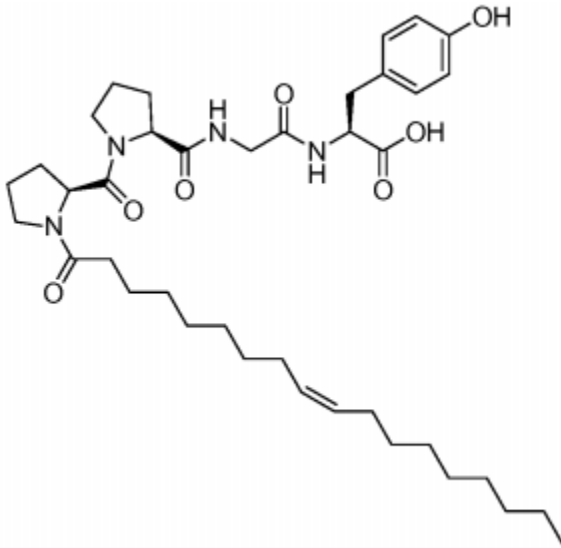


- 5 [0107] Ejemplo 1.10: Estearoil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-tirosina (estearoil-PPGY-OH) RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7,03 (d,  $J = 8,55$  Hz, 2 H), 6,71 (d,  $J = 8,25$  Hz, 2 H), 4,66-4,68 (m, 1 H), 4,55-4,57 (m, 1 H), 4,40-4,44 (m, 1 H), 3,96-4,02 (m, 1 H), 3,84-3,89 (m, 1 H), 3,71-3,76 (m, 1 H), 3,48-3,68 (m, 4 H), 3,08-3,12 (m, 1 H), 2,97-3,02 (m, 1 H), 2,14-2,42 (m, 5 H), 1,90-2,14 (m, 6 H), 1,57-1,61 (m, 2 H), 1,32-1,35 (m, 30 H), 0,92 (t,  $J = 7,15$  Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para  $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{O}_7$  698,5, se encontró  $m/z$  698,5 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ).



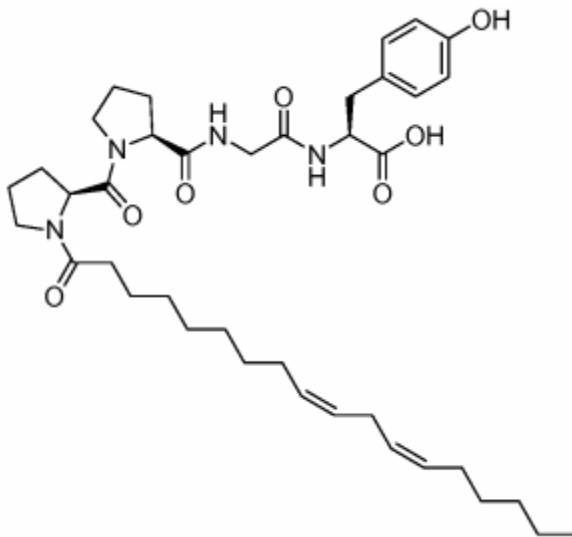
- 10 [0108] Ejemplo 1.11: Hex-5-enoil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-tirosina (5-hexenoil-PPGY-OH)  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7,05 (d,  $J = 8,55$  Hz, 2 H), 6,70 (d,  $J = 8,25$  Hz, 2 H), 5,78-5,89 (m, 1 H), 4,98-5,08 (m, 3 H), 4,66-4,69 (m, 1 H), 4,54-4,57 (m, 1 H), 4,40-4,44 (m, 1 H), 3,97-4,01 (m, 1 H), 3,84-3,90 (m, 1 H), 3,73-3,76 (m, 1 H), 3,47-3,68 (m, 4 H), 3,08-3,12 (m, 1 H), 2,97-3,01 (m, 1 H), 2,33-2,42 (m, 2 H), 2,20-2,30 (m, 2 H), 2,06-2,15 (m, 4 H), 1,92-2,04 (m, 4 H), 1,67-1,76 (m, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_7$  528,3, se encontró  $m/z$  529 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ).





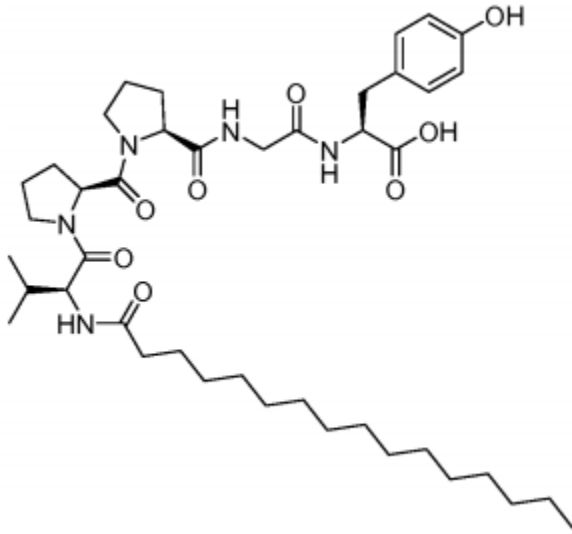
5

[0109] Ejemplo 1.12: Oleoil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-tirosina (oleoil-PPGY-OH) 1H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,03 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,50 Hz, 2 H), 5,34-5,38 (m, 2 H), 4,66-4,68 (m, 1 H), 4,55-4,57 (m, 1 H), 4,40-4,42 (m, 1 H), 3,96-4,01 (m, 1 H), 3,84-3,90 (m, 1 H), 3,73-3,77 (m, 1 H), 3,53-3,69 (m, 4 H), 3,08-3,12 (m, 1 H), 2,97-3,01 (m, 1 H), 2,18-2,39 (m, 5 H), 2,06-2,12 (m, 2 H), 1,92-2,05 (m, 3 H), 1,58-1,61 (m, 3 H), 1,31-1,35 (m, 25 H), 0,92 (t, J = 7,0 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>39</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 696,4, se encontró m/z 697,3 (M + H<sup>+</sup>).

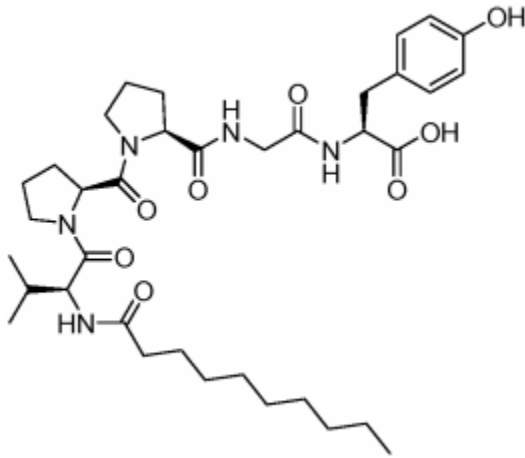


10

[0110] Ejemplo 1.13: ((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoil)-L-prolil-L-prolil-glicil-L-tirosina (linoleil-PPGY-OH) 1H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,05 (d, J = 8,45 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,45 Hz, 2 H), 5,32-5,41 (m, 4 H), 4,66-4,68 (m, 1 H), 4,55-4,57 (m, 1 H), 4,40-4,43 (m, 1 H), 3,96-4,01 (m, 1 H), 3,84-3,89 (m, 1 H), 3,73-3,77 (m, 1 H), 3,53-3,68 (m, 4 H), 3,08-3,12 (m, 1 H), 2,97-3,01 (m, 1 H), 2,80 (t, J = 6,40 Hz, 2 H), 2,19-2,39 (m, 5 H), 1,93-2,13 (m, 10 H), 1,59-1,61 (m, 3 H), 1,31-1,40 (m, 15 H), 0,92 (t, J = 6,59 Hz, 3 H). LC-MS (ESI): calculado para C<sub>39</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 694,4, se encontró m/z 695,2 (M + H<sup>+</sup>).



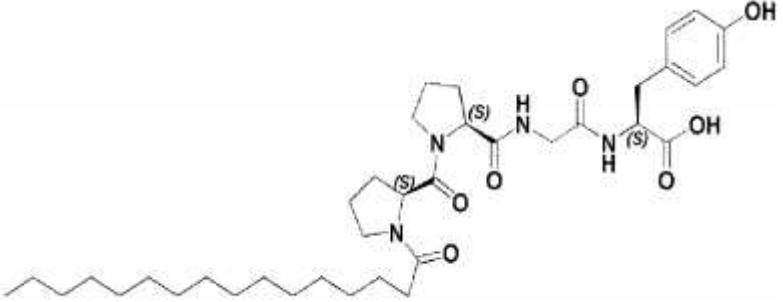
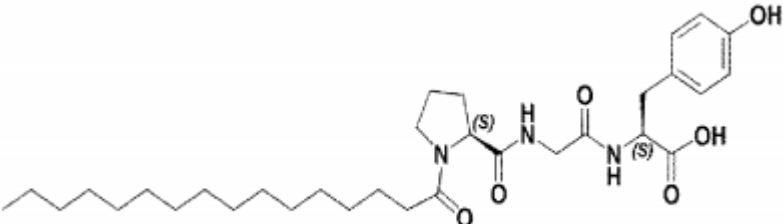
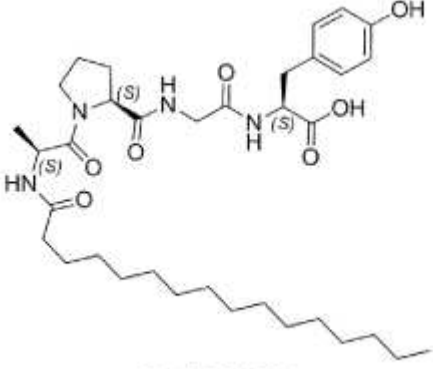
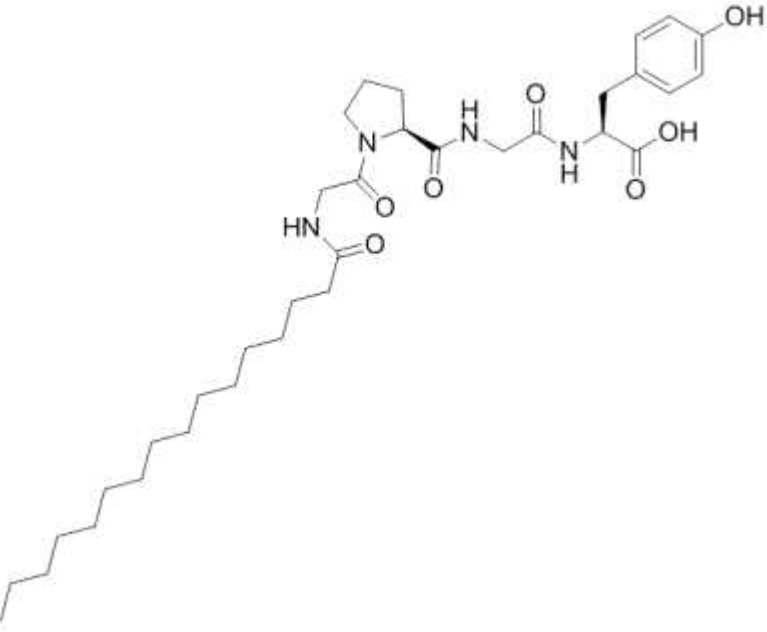
5 [0111] Ejemplo 1.14: Palmitoil-L-valil-L-prolil-L-prolil-glicil-L-tirosina (Pal-VPPGY-OH) 1H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7,04 (d, J = 8,35 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,35 Hz, 2 H), 4,67-4,70 (m, 1 H), 4,52-4,58 (m, 1 H), 4,39-4,43 (m, 1 H), 3,77-4,05 (m, 4 H), 3,64-3,73 (m, 2 H), 3,49-3,60 (m, 1 H), 3,01-3,11 (m, 2 H), 1,87-2,31 (m, 15 H), 1,61-1,63 (m, 3 H), 1,31 (m, 24 H), 1,01 (d, J = 6,58 Hz, 3 H), 0,98 (d, J = 6,58 Hz, 3 H), 0,92 (t, J = 6,96 Hz, 3 H). LC-MS (ESI), calculado para C<sub>42</sub>H<sub>67</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub> 769,5, se encontró m/z 770,7 (M + H<sup>+</sup>).

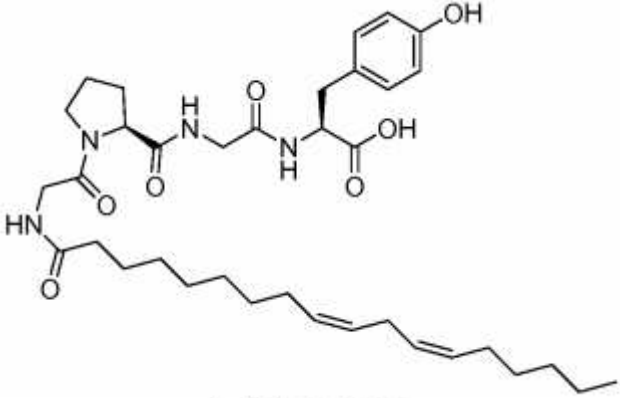
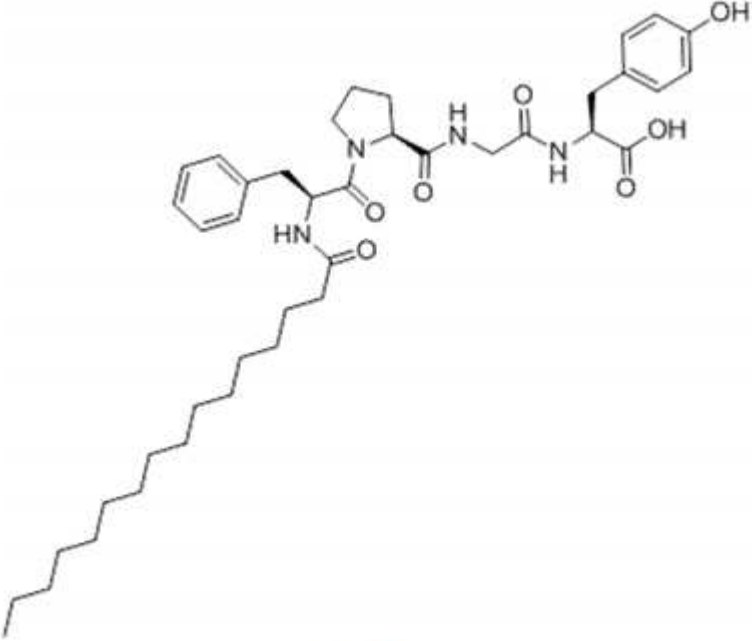
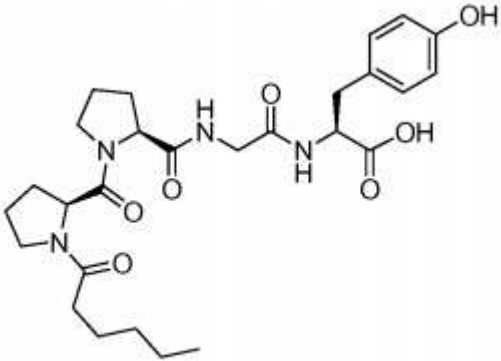


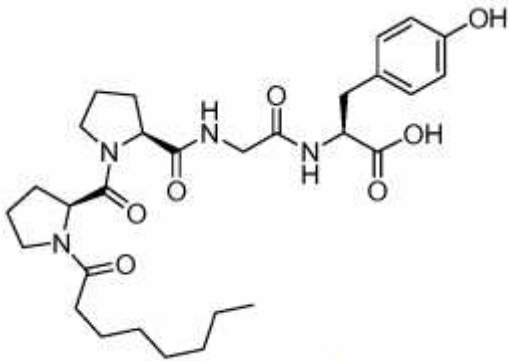
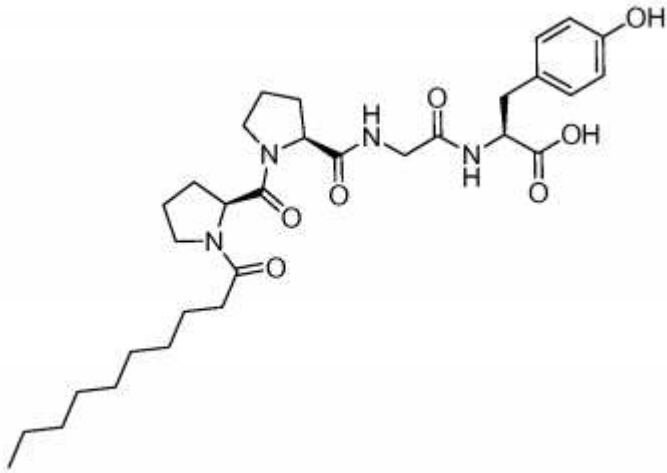
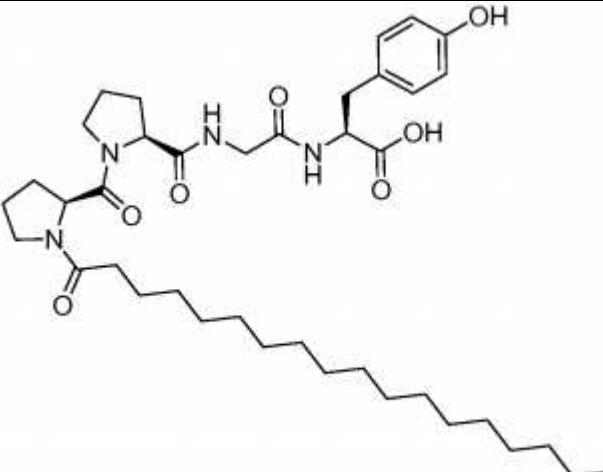
10 [0112] Ejemplo 1.15: Decanoil-L-valil-L-prolil-L-prolil-L-tirosina (decanoil-VPPGY-OH) 1H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7,05 (d, J = 8,45 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,45 Hz, 2 H), 4,67-4,70 (m, 1 H), 4,50-4,57 (m, 1 H), 4,39-4,43 (m, 1 H), 3,95-4,05 (m, 2 H), 3,80-3,91 (m, 1 H), 3,65-3,70 (m, 2 H), 3,64-3,73 (m, 2 H), 3,53-3,57 (m, 1 H), 3,01-3,10 (m, 2 H), 1,89-2,31 (m, 12 H), 1,61-1,63 (m, 3 H), 1,31 (m, 24 H), 1,01 (d, J = 6,68 Hz, 3 H), 0,97 (d, J = 6,55 Hz, 3 H), 0,92 (t, J = 7,05 Hz, 3 H). LC-MS (ESI), calculado para C<sub>36</sub>H<sub>55</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub> 685,4, se encontró m/z 686,6 (M + H<sup>+</sup>). [0113] En la tabla 1 se muestran los compuestos según los ejemplos 1.1 a 1.15.

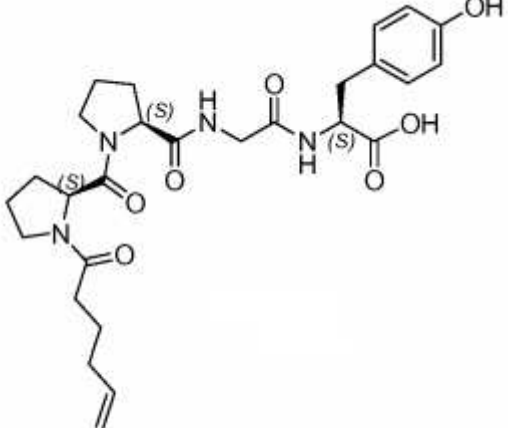
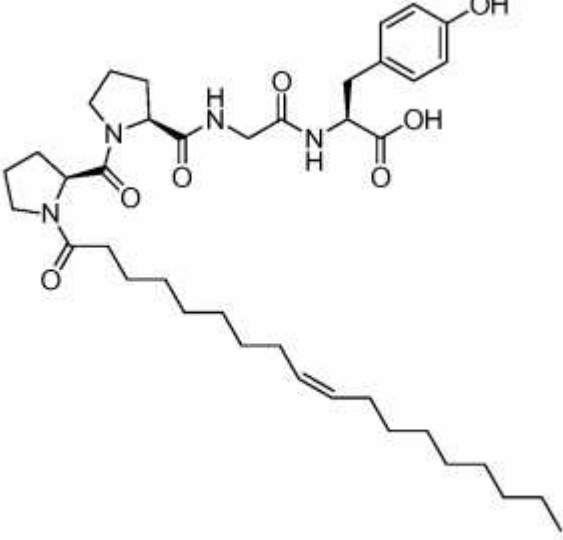
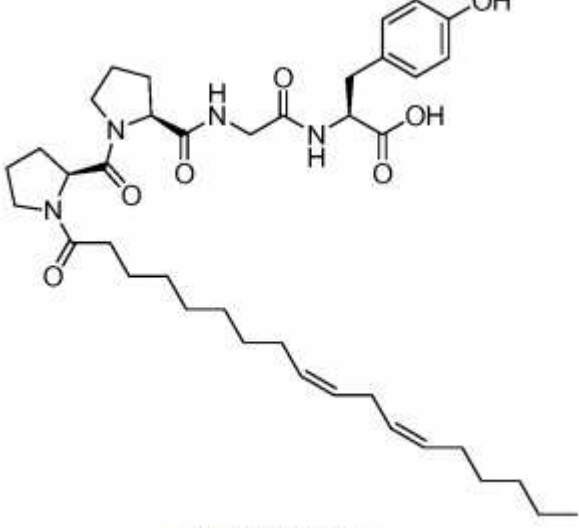
Tabla 1: Compuestos según los Ejemplos 1.1 a 1.15

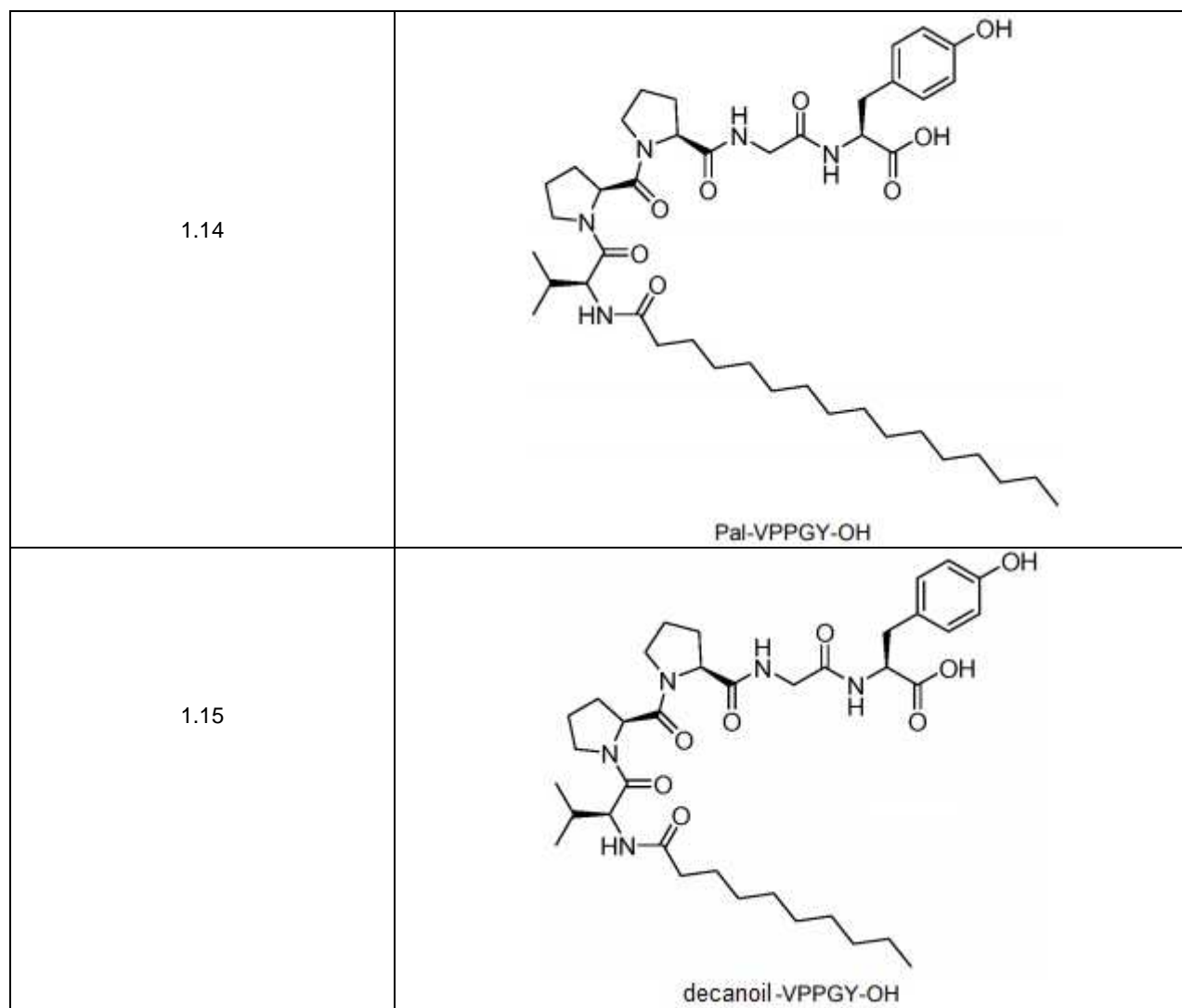
Número del ejemplo (Núm. del compuesto)	Formula química
---	-----------------

<p>1.1</p>	 <p>Pal-PPGY-OH</p>
<p>1.2</p>	 <p>Pal-PGY-OH</p>
<p>1.3</p>	 <p>Pal-APGY-OH</p>
<p>1.4</p>	 <p>pal-GPGY-OH</p>

<p>1.5</p>	 <p>linoleil-GPGY-OH</p>
<p>1.6</p>	 <p>pal-FPGY-OH</p>
<p>1.7</p>	 <p>hexanoil-PPGY-OH</p>

<p>1.8</p>	 <p>octanoil-PPGY-OH</p>
<p>1.9</p>	 <p>decanoil-PPGY-OH</p>
<p>1.10</p>	 <p>estearoil-PPGY-OH</p>

<p>1.11</p>	 <p>5-hexenoil-PPGY-OH</p>
<p>1.12</p>	 <p>oleil-PPGY-OH</p>
<p>1.13</p>	 <p>linoleil-PPGY-OH</p>



## Ejemplos 2: Ensayos

## Ejemplo 2.1: Supresión de la expresión de IL-6

5 [0114] Para evaluar la supresión de la expresión de la IL-6 por los compuestos de la presente invención, se realizó el siguiente experimento.

[0115] Primero, se compraron células macrófagas RAW 264.7 de la American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA), y se cultivaron a una temperatura de 37°C, bajo una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>, usando 10% de Fetal Bovine Serum (FBS) y Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) que contiene 1% de penicilina/estreptomicina.

10 [0116] Las células macrófagas RAW 264.7 cultivadas fueron divididas en una placa de cultivo celular de 6 pocillos. Después de 24 horas, las células fueron pretratadas con el compuesto 1.1, el compuesto 1.2 y la smaducina-6, respectivamente, en una concentración de 100 nM durante 30 min, y posteriormente tratadas con lipopolisacáridos (LPS) durante dos horas. Estas células se recogieron con TRIzol® y se extrajo el RNA. De 2 mg del RNA extraído, se sintetizaron los cADN (ácidos desoxirribonucleicos complementarios) y se realizaron reacciones en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) y reacciones en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR en tiempo real).

15 Las muestras de la RT-PCR se confirmaron mediante electroforesis en geles de agarosa y se cuantificaron con un densitómetro. Se utilizó un gen de gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como control de carga para el gen de la interleucina-6.

[0117] La FIG. 1A muestra imágenes que representan la supresión de la expresión de la interleucina-6 por el compuesto 1.1 y el compuesto 1.2, y la FIG. 1B es un gráfico que muestra la supresión cuantificada de la expresión de la interleucina-6 por el compuesto 1.1 y el compuesto 1.2. En comparación con la muestra no tratada, cuando las células fueron tratadas con el compuesto según la presente invención, se suprimió la expresión de la interleucina-6, que fue inducida por el tratamiento con LPS.

[0118] Además, las células macrófagas RAW 264.7 cultivadas como se ha descrito anteriormente también se dividieron en una placa de 6 pocillos, después de 24 horas, se trataron previamente con 100 nM del compuesto 1.1 durante 30 minutos, y se trataron posteriormente con LPS durante dos horas. Se recogió el cultivo celular arriba mencionado y, utilizando una matriz de citoquinas (Mouse cytokine array C3, RayBiotech), se cuantificaron los cambios en las cantidades de citoquinas y quimioquinas mediante un densitómetro. Las citoquinas y quimioquinas detectadas por el compuesto de la presente invención incluían G-CSF, IL-2, SCF, VEGF, CX3CL1, IGFBP5, IGFBP6, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-9, MCP-1, MIP-3 $\alpha$ , IL12p40/70, MIG, TNF- $\alpha$ , y VCAM-1. En comparación con las muestras no tratadas, cuando las células fueron tratadas con los compuestos de la presente invención, la expresión de las citoquinas y quimioquinas mencionadas, que fueron inducidas por el tratamiento LPS, fueron suprimidas como estadísticamente significativas (FIG. 2).

[0119] Las células macrófagas RAW 264.7 fueron tratadas con concentraciones variables del compuesto 1.1 de 50 pM a 500 nM durante 30 minutos, y fueron tratadas con 100 ng/mL de LPS durante dos horas. La expresión inducida de la interleucina-6 se cuantificó como se ha descrito anteriormente y los resultados se presentaron en la FIG. 3. En las células macrófagas RAW 264.7, la concentración del compuesto 1.1 en el que la expresión de la interleucina-6 fue suprimida al 50% o menos (es decir, IC50) fue de aproximadamente 1.6 nM.

#### Ejemplo 2.2: Supresión de la actividad NF- $\kappa$ B

[0120] Para evaluar si la señal NF- $\kappa$ B inducida por el LPS fue específicamente suprimida por los compuestos de la presente invención, se realizaron los siguientes experimentos.

[0121] Específicamente, el plásmido reportero 5x NF- $\kappa$ B-Luciferasa fue transformado en células RAW 264.7 usando Effectene (Qiagen, USA). Las células transfectadas se trataron previamente con 100 nM del compuesto 1.1 durante 30 minutos, y luego se trataron con LPS (100 ng/ml) durante dos horas, y se midió la actividad de la luciferasa en las células (la FIG. 4 muestra un gráfico que muestra las actividades de inhibición relativas del compuesto 1.1 y del compuesto 1.2 a la activación de NF- $\kappa$ B). Cuando las células fueron tratadas con el compuesto 1.1 y el compuesto 1.2 según la presente invención, se inhibió la activación de NF- $\kappa$ B, que fue inducida por el LPS (FIG. 4).

[0122] Además, el plásmido reportero 5x NF- $\kappa$ B-Luciferasa fue transfectado en células macrófagas RAW 264.7 y tratado con compuestos de la presente invención, como se describió anteriormente. Después de 24 horas de la transfección, las células fueron pretratadas con DMSO (control), el compuesto 1.1, el compuesto de referencia 1 (compuesto donde el ácido palmítico es eliminado del compuesto 1.1), y la smaducina-6 a varias concentraciones de 100 pM, 1nM, y 100nM durante 30 minutos, y luego las células fueron tratadas con 100 ng/mL de LPS durante dos horas. Se midió la actividad de la luciferasa en las células y los resultados se presentan en la FIG. 5.

[0123] Como se muestra en la FIG. 5, cuando las células fueron pretratadas con el compuesto 1.1 (similar a las células pretratadas con smaducin-6), la inhibición de la actividad de NF- $\kappa$ B, que fue inducida por el tratamiento con LPS, se incrementó al aumentar la dosis del compuesto 1.1. En cambio, cuando las células fueron pretratadas con DMSO o el compuesto de referencia 1, la actividad de la NF $\kappa$ B no se inhibió de manera dependiente de la dosis.

#### Ejemplo 2.3: Selectividad de la vía de señalización

[0124] Para evaluar la selectividad de la vía de señalización del compuesto 1.1 de acuerdo con la presente invención, se realizaron los siguientes experimentos. Se realizaron los siguientes experimentos para comprobar si el compuesto 1.1 suprimía específicamente una vía de señalización inducida por un inductor individual.

[0125] Específicamente, el plásmido reportero 5x NF- $\kappa$ B-Luc, el plásmido reportero SBE-Luc, y el plásmido reportero BRE-Luc se transfirieron individualmente a las células macrófagas Raw 264.7. Después de 24 horas, las células transfectadas con el plásmido NF- $\kappa$ B-Luc fueron tratadas con 100 ng/mL de LPS, las células transfectadas con el plásmido SBE-Luc fueron tratadas con 5 ng/mL de TFG- $\beta$ 1, y las células transfectadas con el plásmido BRE-Luc fueron tratadas con 100 ng/mL de BMP6 durante dos horas.



[0126] La FIG. 6 es un gráfico que muestra las actividades de supresión relativas del compuesto 1.1 a diferentes vías de señalización. Como se muestra en la FIG. 6, cuando las células fueron tratadas con el compuesto 1.1 según la presente invención, se inhibió la activación de NF $\kappa$ B, que fue inducida por el tratamiento con LPS. Sin embargo, la activación de BRE, que fue inducida por el tratamiento de BMP6, o la activación de SBE, que fue inducida por el tratamiento de TFG- $\beta$ 1, no fue inhibida por el compuesto 1.1. En consecuencia, el compuesto 1.1 inhibió selectivamente la activación de la vía de señalización del NF- $\kappa$ B.

[0127] En particular, en estudios recientes se ha informado de que, para el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria, las vías de señalización del TFG- $\beta$  y la BMP pueden relacionarse específicamente con la curación de heridas de la mucosa y similares (Nature 449 (2007), 361-365, Am J Path, 162(2), (2003), Nature Immunol. 6, (2005), 507-514, J Cell Physiol. 196(2): (2003); 258-64), y Nature Protocols, 8(3), (2013) 627-637), y TFG- $\beta$  podría ser un factor muy importante en el control de la condición inflamatoria (condicionamiento de las células dendríticas) en los intestinos (J. Clin. Invest., 111 (2003), 1297-1308, Immunity, 10 (1999), 39-49, Eur. J. Immunol., 36 (2006), 864-874, Immunity, 25 (2006), 319-329, Cell 118 (2004), 229-241, y J. Immunol. 179 (2007), 2690-2694). En consecuencia, los compuestos de la presente invención no suprimen la activación de las vías de señalización TFG- $\beta$  y BMP, que indicaban que esos compuestos son marcadamente eficaces para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.

#### Ejemplo 2.4: Interrupción de la Formación del Complejo de Señalización y la Degradación del inhibidor $\kappa$ B (I $\kappa$ B)

[0128] Con el fin de comprobar si el compuesto de la presente invención puede interrumpir la formación del complejo proteico de la vía de señalización de la inflamación mediado por MyD88 y/o RIP1, por ejemplo, los receptores de tipo Toll (TLR) que señalan el complejo proteico de la vía de señalización, se realizaron experimentos de inmunoprecipitación. Al mismo tiempo, se realizaron los siguientes experimentos para medir la degradación de I $\kappa$ B por el compuesto de la presente invención como la medición de los cambios de concentración de I $\kappa$ B.

[0129] Específicamente, utilizando anticuerpos correspondientes a proteínas que se relacionan con la formación de receptores de tipo Toll (TLRs) que señalan el complejo proteico de la vía de señalización (por ejemplo, IRAK1, TRAF6, MyD88, RIP1 y Pellino-1), se afirmó la interrupción de la formación de complejos de proteínas de la vía de señalización inflamatoria mediante la inmunoprecipitación. Como control de referencia, se comparó una cantidad relativa de expresión de  $\beta$ -actina del lisado celular total y se presentó usando el Western blot.

[0130] Las células macrófagas RAW264.7 se volvieron a tratar individualmente con el compuesto 1.1 y el compuesto 1.2, y la smaducina6, y se trataron posteriormente con LPS. Estas células macrófagas RAW264.7 fueron recolectadas, lisadas en una mantequilla de lisis (PBS que contiene 0,5 % de Triton X-100, 20 mM HEPES (pH 7,4), 150 mM NaCl, 12,5mM  $\beta$ -fosfato de glicerol, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM NaF, 2 mM DTT, 1 mM Na<sub>3</sub>O<sub>4</sub>V, 2 mM EGTA, y 1 mM Inhibidor de Proteasa (PMSF)), y centrifugadas a 13000 rpm durante 10 minutos. Para los ensayos de inmunoprecipitación, el sobrenadante se incubó a 4°C durante 12 horas, con perlas de agarosa de la proteína-A y los anticuerpos correspondientes a las proteínas arriba mencionadas, y las perlas se lavaron posteriormente tres veces con el tampón de lisis. Las sustancias inmunoprecipitadas se disociaron de las perlas con la adición de 2x de tampón de muestra, y se hirvieron. Las muestras preparadas se cargaron en gel de poliacrilamida SDS (FIG. 7).

[0131] Para medir los cambios en la concentración de I $\kappa$ B, las células macrófagas RAW264.7 fueron pretratadas individualmente con el compuesto 1.1, el compuesto 1.2 y la smaducina-6 a una concentración de 100 nM, y luego fueron tratadas con LPS. Se utilizó el lisado celular extraído para la inmunotransferencia con el anticuerpo I $\kappa$ B $\alpha$ , y como referencia se utilizó  $\beta$ -actin (FIG. 7).

[0132] La FIG. 7 muestra imágenes de la inmunoprecipitación que indican que el compuesto 1.1 y el compuesto 1.2 interrumpieron los complejos proteicos de la vía de señalización inflamatoria, que están mediados por MyD88 o RIP1, y adicionalmente indican cambios en la concentración de I $\kappa$ B por estos compuestos. Cuando las células fueron tratadas con los compuestos de acuerdo con la presente invención, en comparación con el control de lisado celular total, se interrumpió la formación del complejo proteico de la vía de señalización inflamatoria (que está mediado por MyD88 o RIP1) (FIG. 7). Las células tratadas con el compuesto de la presente invención se estabilizaron mediante la desfosforilación I $\kappa$ B con respecto a la expresión de la referencia de  $\beta$ -actin.

[0133] Cuando las células fueron tratadas con los compuestos de acuerdo con la presente invención, en comparación con el control del lisado celular total, la formación del complejo proteico MyD88 y el complejo proteico RIP1, y

5 sus actividades fueron sustancialmente interrumpidas e inhibidas (FIG. 7). Estos resultados indicaron que los compuestos de la presente invención pueden ser utilizados para el tratamiento de enfermedades relacionadas con Pellino-1. Además, además de las enfermedades inflamatorias del intestino descritas anteriormente, los compuestos de la presente invención pueden ser efectivos para prevenir o tratar la atrofia geográfica, la DMRE húmeda (wet-AMD), la DMRE seca (dry-AMD), la retinopatía diabética, esclerosis múltiple (EM), la inflamación de los pulmones, la neumonía bacteriana, la neumonía viral, el linfoma difuso de células B grandes (tipo DLBCL, GCB o ABC) y la alopecia (Journal of Clinical Investigation, 124(11), (2014), 4976-4988, J Virology, 86(12), (2012), 6595-6604, Nature Medicine, 19(5), (2013), 595-602, J. Immunol., 187 (2011), 1-14, J. Inv. Derm., 132 (2012), 43-49, Med. Inflamatoria, (2010), Article ID 928030, Hair the transplant, 4 (2014), 4:1, Exp. Derm., 17 (2007), 12-19, y DDT Dis. Mech. 5 (2009), e163-171)).

10 [0134] Las células macrófagas derivadas de la médula ósea (BMDM) se trataron previamente de forma individual con el compuesto 1.1, el compuesto de referencia 1 y la smaducina-6 en varias concentraciones de 100 pM, 1nM y 100nM, y luego se trataron nuevamente con 100 ng/mL de LPS. Los lisados celulares extraídos se utilizaron para el inmunoblot tal y como se ha descrito anteriormente, y los resultados se mostraron en la FIG. 8.

15 [0135] En el caso de las células pretratadas con el compuesto 1.1, en comparación con las células pretratadas con la smaducina-6, la formación del complejo de la vía de señalización inflamatoria (por ejemplo, los receptores tipo Toll (TLR)), que fue mediado por MyD88 y RIP1, se interrumpió aún más de manera creciente y dependiente de la dosis del compuesto 1.1. Mientras tanto, las células pretratadas con DMSO, o el compuesto de referencia 1, formaron el complejo de la vía de señalización inflamatoria, que está mediado por MyD88 y RIP1 de manera no dependiente de la dosis.

20 [0136] Asimismo, en comparación con el control de lisado celular total, cuando las células fueron pretratadas con el compuesto 1.1 de la presente invención, la formación del complejo de la vía de señalización inflamatoria, que está mediado por MyD88 y RIP1, fue sustancialmente interrumpida. Los experimentos en los que se utilizaron células BMDM con el compuesto de la presente invención indicaron que el compuesto de la presente invención es efectiva para la prevención y el tratamiento de múltiples enfermedades relacionadas con MyD88, la prevención y el tratamiento de enfermedades relacionadas con la expresión de Pellino-1 como la infección viral (infección viral respiratoria, neumonía viral), la neumonía bacteriana, la enfermedad autoinmune, el cáncer sanguíneo incluido el linfoma, los tumores en diversos órganos internos (por ejemplo, el hígado, el pulmón, el intestino, la próstata, el páncreas y similares), y la prevención y el tratamiento de la esclerosis múltiple (EM).

25 [0137] Como se muestra en la FIG. 9, las células macrófagas RAW 264.7 (arriba) y las células BMDM (abajo) fueron pretratadas individualmente con el compuesto 1.1, el compuesto de referencia 1, y la smaducina-6 en varias concentraciones de 100 pM, 1nM y 100nM y fueron tratadas posteriormente con 100 ng/ml de LPS. Los resultados se compararon con la expresión de referencia de  $\beta$ -actina. La expresión de I $\kappa$ B se incrementó en las células al aumentar la dosis del compuesto pretratado 1.1 y la smaducina-6. Mientras tanto, I $\kappa$ B se degradó en las células pretratadas con DMSO o el compuesto de referencia 1 porque se demostró que estaba fosforilado. En consecuencia, el compuesto 1.1 de la presente invención inhibió la degradación de I $\kappa$ B.

Ejemplo 2.5: Evaluación de la correlación entre la dosis y el índice de actividad de la enfermedad

40 [0138] Para evaluar el índice de actividad de la enfermedad de los compuestos de la presente invención en un modelo animal con colitis crónica inducida por sulfato de dextrano sódico (DSS), se realizaron los siguientes experimentos.

[0139] Se alimentó a ratones (7-8 semanas, hembra, C57BL/6) con un polímero DSS al 2% (MW de unos 50000Da) en agua potable durante 5-7 días, y se indujo la colitis cada 2 a 15 días. El compuesto 1.1 se administró luego por vía oral a los ratones con colitis crónica inducida por DSS, en una cantidad de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg, respectivamente, a partir del tercer día después de la alimentación con DDS, diariamente, durante 11 días. El peso corporal, la diarrea y la hemafecia de los ratones se controlaron diariamente y se midieron los índices de actividad de la enfermedad (FIG. 10).

[0140] La FIG. 10 es un gráfico que indica las puntuaciones del índice de actividad de la enfermedad en el modelo animal con colitis crónica inducida por el DSS según la dosis del compuesto 1.1 y el compuesto 1.2 administrados por vía oral. Como se muestra en la FIG. 10, cuando se administró el compuesto 1.1 de la presente invención a

diferentes dosis de 50 mg/kg a 400 mg/kg, la actividad de la enfermedad del mismo disminuyó a medida que la dosis aumentó, y la disminución de la actividad de la enfermedad se saturó a una dosis de 200 mg/kg. Por consiguiente, el compuesto de la invención presente aumentó proporcionalmente la actividad de manera dependiente de la dosis.

Ejemplo 2.6: Supresión de la actividad de la enfermedad intestinal

5 [0141] Para evaluar la actividad de supresión de los compuestos de la presente invención en un modelo animal con colitis aguda inducida (inducida por DSS), se realizaron los siguientes experimentos.

[0142] Se alimentó a ratones (7-8 semanas, hembra, C57BL/6) con un polímero DSS al 2% (MW de unos 50000Da) en agua potable durante 7-8 días, y se indujo la colitis. Luego, a cada ratón con colitis aguda se le administró sulfasalazina en una cantidad de 500 mg/kg y el compuesto 1.1 en una cantidad de 100 mg/kg diarios durante 14 días.  
10 Se controlaron diariamente el peso corporal, la diarrea y la hemafecia de los ratones y se midieron los índices de actividad de la enfermedad (DAI) (FIG. 11A).

[0143] El DAI se midió de la siguiente manera:

- 1) Pérdida de peso (0 puntos: sin pérdida de peso; 1 punto: reducción de peso en un 1-5%, 2 puntos: reducción de peso en un 6-10%, 3 puntos: reducción de peso en un 11-20%; 4 puntos: reducción de peso en un 20% o más);
- 15 2) Diarrea (0 punto: movimiento intestinal normal; 2 puntos: movimiento intestinal suelto; 4 puntos: diarrea); y
- 3) hemafecia (0 puntos: heces normales; 2 puntos: sangre leve en las heces; 4 puntos: gran cantidad de sangre en las heces).

[0144] La FIG. 11A es un gráfico que indica las puntuaciones del índice de actividad de la enfermedad que presenta las actividades de supresión de los compuestos administrados en el modelo animal con colitis aguda inducida por DSS. En comparación con la sulfasalazina antiinflamatoria, el compuesto de la presente invención tuvo suficiente puntuación del índice de actividad de la enfermedad a dosis reducidas, y por lo tanto, el compuesto de la presente invención es más eficaz para el tratamiento de la colitis (FIG. 11A).  
20

[0145] Mientras tanto, como se muestra en la FIG. 11B, a los ratones que sufrían de colitis crónica inducida por DDS se les administró por vía oral la sulfasalazina en una cantidad de 500 mg/kg y el compuesto 1.1 en una cantidad de 100 mg/kg diarios durante 10 días. Después de 10 días de administración, se obtuvieron tejidos del intestino grueso de los ratones y se midió la expresión de quimiocinas (CCL20, CCL2 y CX3CL1) en los tejidos mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR en tiempo real), como se ha descrito anteriormente. El compuesto 1.1 resultó ser un inhibidor eficaz de las quimiocinas al inhibir la quimiotaxis de las células inmunes patógenas en los tejidos inflamados.  
25

30 Ejemplo 2.7: Análisis histológico de las vellosidades del colon

[0146] Para confirmar el efecto del tratamiento de la colitis crónica inducida por DDS mediante el compuesto 1.1 de la presente invención, se fotografiaron las vellosidades del intestino grueso de un grupo no tratado, un grupo modelo con colitis crónica inducida por DDS y un grupo tratado con el compuesto 1.1 (FIGS. 12-16).

[0147] Las FIGS 12-14 son imágenes que muestran las formas de las vellosidades del intestino grueso del grupo no tratado, el grupo modelo con colitis crónica inducida por DDS y el grupo tratado con el compuesto 1.1. Como se muestra en las FIGS. 12-14, en comparación con las vellosidades del intestino grueso del modelo con colitis crónica inducida por DSS, las vellosidades del grupo tratado con el compuesto 1.1 eran similares a las vellosidades del grupo no tratado.  
35

[0148] La FIG. 15 muestra imágenes fotográficas de los tejidos del intestino grueso obtenidos del grupo no tratado, el grupo modelo con colitis crónica inducida por DDS, el grupo tratado con el compuesto 1.1 (100 mpk) y el grupo tratado con sulfasalazina (500 mpk) como droga antiinflamatoria para el tratamiento de la colitis. La FIG. 16 muestra imágenes fotográficas de la morfología de las membranas mucosas del intestino grueso obtenidas del grupo no tratado, el grupo modelo con colitis crónica inducida por DDS, el grupo tratado con el compuesto 1.1 (100 mpk) y el grupo tratado con sulfasalazina (500 mpk) como droga antiinflamatoria para el tratamiento de la colitis, y las membranas mucosas se tiñeron con el azul alcian. Como se muestra en las Figuras 15 y 16, cuando el grupo modelo con  
40  
45

colitis crónica inducida por DSS se trató con el compuesto 1.1, se aliviaron los daños histológicos que se pueden encontrar en los tejidos inflamados. Además, en comparación con el grupo no tratado y el grupo tratado con sulfasalazina, el grupo tratado con el compuesto 1.1 tuvo una mayor recuperación de las membranas mucosas al bloquear las células inflamadas en el tejido.

5 [0149] La FIG. 17 es un gráfico que muestra el nivel de recuperación de la pared del intestino grueso en el grupo no tratado, el grupo modelo con colitis crónica inducida por DDS, el grupo tratado con el compuesto 1.1 (100 mpk) y el grupo tratado con sulfasalazina (500 mpk).

10 [0150] Específicamente, como se describe en Nature Protocols, 8(3), (2013) 627-637, el octavo día de tratamiento en los modelos con colitis crónica inducida por DDS, el FITC-Dextran se administró por vía oral a una dosis de 44 mg por cada 100 g de peso corporal. Después de cuatro horas de administración, se recogió sangre en una cantidad de 300-400 mL del corazón de los ratones. El FITC-Dextran liberado en el torrente sanguíneo se midió con un espectrofotofluorímetro/Espectrofluorímetro.

15 [0151] La FIG. 17 muestra cuantitativamente que, al analizar el FITC-Dextrano liberado en el torrente sanguíneo, se recuperaron la estrecha unión del tejido epitelial del intestino grueso causada por la embolización de la membrana mucosa del intestino grueso, o la función en la pared del intestino grueso, como el tratamiento actual con sulfasalazina. En consecuencia, el compuesto de la presente invención tuvo un efecto significativo en la recuperación de la barrera epitelial intestinal y las funciones de unión estrecha en los tejidos de la colitis crónica.

Ejemplo 2.8: Concentración plasmática

20 [0152] Para evaluar los cambios de la concentración de la sangre (torrente sanguíneo) de la administración intravenosa y oral del compuesto 1.1 de la presente invención, se realizaron los siguientes experimentos.

[0153] El compuesto 1.1 se administró a una rata por vía intravenosa (i.v., 5 mg/kg) u oral (50 mg/kg), y 24 horas después de la administración se midió la concentración del compuesto 1.1 en el plasma (FIGS. 18 y 19).

25 [0154] Cuando se administraba por vía intravenosa, se midieron los cambios en la concentración del compuesto 1.1 en varios intervalos de tiempo (FIG. 18). La concentración se redujo a 1/100 de la concentración inicial del mismo dentro de 1-2 horas y dentro de 8 horas desde la administración. El compuesto 1.1 se detectó en la sangre a una concentración muy baja.

[0155] Cuando se administraba por vía oral, se midieron los cambios en la concentración sanguínea del compuesto 1.1 en varios intervalos de tiempo (FIG. 19). Después de 30 minutos desde la administración oral, el compuesto 1.1 no se detectó en la sangre.

30 [0156] La tabla 2 muestra los parámetros farmacocinéticos del compuesto 1.1.

Tabla 2: Parámetros farmacocinéticos del compuesto 1.1

Perfil		5 mg/kg (i.v)	50 mg/kg (p.o.)
<i>In vivo PK</i> (Rata, de dosis única)	Animal	Rata macho SD	Rata macho SD
	Cmx (ng/mL)	6,017.3 ± 2,302.4	0
	Tmax (hr)	0.08	0
	AUClast (ng·hr/mL)	2,135.6 ± 848.1	0
	T1/2 (hr)	-	0
	Vss (L/kg)	5.4 ± 1.0	-
	CL (L/hr/kg)	2.7 ± 1.3	-

2.9: Distribución en los tejidos

35 [0157] Para evaluar la distribución tisular del compuesto 1.1 de acuerdo con la presente invención, se realizaron los siguientes experimentos.

[0158] El compuesto 1.1 se administró por vía oral a una rata a una dosis de 10 mg/kg, y después de 2 horas y 8 horas se midieron las concentraciones del compuesto 1.1 en el tejido del intestino delgado, el tejido del intestino

grosso, el tejido del apéndice, el retrimentum del intestino delgado y el retrimentum del intestino grueso. Los resultados se muestran en el siguiente cuadro 3.

Tabla 3: Concentración del compuesto 1.1 tras su administración oral

Especies	Concentración (ng/mL)	
	2 horas	8 horas
tejido del intestino delgado	75 ± 70.2	78.1 ± 59.9
tejido del intestino grueso	30 ± 10	33.2 ± 28.8
tejido del apéndice	22.7 ± 2.56	48.2 ± 46
retrimentum en el intestino delgado	1118 ± 217	876 ± 900
retrimentum en el intestino grueso	ND	1278 ± 52.7

ND: No Determinado  
Rango de Cuantificación: intestino 8-2000 ng/kg, retrimentum 30-1000 ng/mL

5 [0159] Como se muestra en el cuadro 3, el compuesto 1.1 se distribuyó en los tejidos intestinales como el intestino delgado, el intestino grueso y en el tejido del apéndice a las 2 y 8 horas desde su administración en un rango cuantitativo, y el compuesto 1.1 se distribuyó en los tejidos internos 8 horas después de su administración.

10 [0160] Por consiguiente, cuando se administra por vía oral, una concentración efectiva del compuesto de la presente invención se mantiene de manera continua en los tejidos intestinales, incluso después de 8 horas. Debido a que el compuesto de la presente invención es una droga de molécula pequeña, el compuesto puede ser fácilmente llevado a los intestinos de tal manera que la concentración efectiva del mismo puede ser fácilmente alcanzada. Consecuentemente, por administración oral, el compuesto descrito en el presente documento puede ser utilizado para tratar eficazmente las enfermedades inflamatorias del intestino.

Ejemplo 2.10: Inhibición de la actividad de la vía de señalización MAPK

15 [0161] Para comprobar si el compuesto 1.1 y el compuesto 1.2 de la presente invención suprimen la vía de señalización MAPK/ERK, se realizó un análisis Western blot (FIG. 20).

20 [0162] Se trataron previamente células macrófagas RAW 246.7 con el compuesto 1.1, el compuesto 1.2 y el compuesto de referencia 1 a una concentración de 100 nM durante 30 minutos y luego se trataron nuevamente con LPS durante 0 horas, 0,5 horas, 1 hora y 2 horas. La fosforilación de las proteínas de la vía de señalización MAPK (ERK1/2, JNK, p38) de la célula tratada con el compuesto 1.1, y el compuesto 1.2, se activó a las 0,5 horas con el mismo patrón que el caso del compuesto de referencia 1, y después de 1 hora o 2 horas de tratamiento, la fosforilación de esas proteínas se redujo gradualmente con el mismo patrón que en el caso del compuesto de referencia 1. Se utilizó  $\beta$ -actin como control de referencia. Los cambios de la concentración tras la fosforilación de cada proteína se midieron por inmunotransferencia utilizando anticuerpos antifosforilación. El compuesto de referencia 1, el compuesto 1.1 y el compuesto 1.2 no inhibieron la fosforilación de las proteínas de la vía de señalización MAPK.

25 [0163] La FIG. 21 muestra imágenes que determinan la inhibición de la fosforilación de las proteínas de la vía de señalización MAPK (ERK1/2, JNK, p38). Las células BMDM fueron pretratadas con DMSO, el compuesto de referencia 1, el compuesto 1.1 y smaducin-6 a varias concentraciones de 100 pM, 1 nM y 100 nM y luego fueron tratadas nuevamente con LPS durante 2 horas. A continuación se realizó un análisis Western blot. El compuesto 1.1 según la presente invención no se relacionó con la supresión de la fosforilación de las proteínas de la vía de señalización MAPK/ERK a pesar del aumento de la dosis, que era similar al DMSO y al compuesto de referencia 1.

Ejemplo 2.11: Comparación con el inhibidor IRAK1/4

35 [0164] Como se describe en el ejemplo 2.3, el plásmido reportero 5x NF- $\kappa$ B-Luc se transfectaron a células macrófagas RAW 246.7. Después de 24 horas, las células transfectadas con el plásmido reportero NF- $\kappa$ B-Luc fueron pretratadas con el compuesto 1.1 (100 nM), el Inhibidor de Quinasa 1/4 asociada al Receptor de la Interleucina 1 (IRAK1/4) inhibidor (25  $\mu$ M, CAS 509093-47-4), y la smaducina-6 (100 nM) durante 30 minutos, y luego fueron trata-

das nuevamente con LPS (100 ng/ml) durante 2 horas. Posteriormente, se midieron las actividades de la luciferasa en las células.

5 [0165] La FIG. 22 muestra la inhibición de la activación del NF- $\kappa$ B por el compuesto 1.1 y el inhibidor IRAK1/4 (FIG. 22B) relativamente. A una alta concentración del inhibidor IRAK1/4 (por ejemplo, 25  $\mu$ M), se inhibió la activación del NF- $\kappa$ B, que fue similar al compuesto 1.1.

[0166] Se midieron los cambios en la concentración de I $\kappa$ B en el lisado celular de las células macrófagas de RAW 246.7, que se trataron previamente con el compuesto 1.1 (100 nM), el inhibidor IRAK1/4 (25  $\mu$ M) y la smaducina-6 (100 nM) y luego se trataron nuevamente con LPS (100 ng/ml) (FIG. 23). El inhibidor IRAK1/4 también suprimió la degradación de I $\kappa$ B similar al compuesto 1.1 (FIG. 23).

10 [0167] La FIG. 24 muestra un gráfico e imágenes que comparan la supresión de la vía de señalización MAPK/ERK por el compuesto 1.1 y el inhibidor IRAK1/4. Específicamente, las células macrófagas RAW 246.7 fueron pretratadas con DMSO, el compuesto 1.1 (100 nM), el inhibidor IRAK1/4 (25  $\mu$ M), y la smaducina-6 (100 nM) durante 30 minutos, y luego fueron tratadas con LPS (100 ng/ml) durante dos horas. La FIG. 24A muestra específicamente los resultados de la inmunotransferencia para evaluar si la fosforilación de las proteínas de la vía de señalización MAPK, como ERK, JNK y p38, fue inhibida por el tratamiento arriba mencionado. Se utilizó  $\beta$ -actin como referencia. El compuesto 1.1 y la smaducina-6 no suprimieron la vía de señalización MAPK ni inhibieron la fosforilación de las proteínas. Por el contrario, el inhibidor IRAK1/4 suprimió al menos una o más de las vías de señalización MAPK.

15

[0168] Además, para comprobar si se producía un efecto secundario inesperado (por ejemplo, del hecho de que el inhibidor del IRAK1/4 suprime la señal de transcripción de la AP-1 en la vía MAPK inducida con LPS, que es contrario al compuesto 1.1), se realizaron los siguientes experimentos.

20

[0169] Se transfectaron células macrófagas RAW 246.7 con el plásmido reportero AP-1-Luc, como se describe en el ejemplo 2.3. Después de 24 horas, las células transfectadas con el plásmido reportero AP-1-Luc fueron pretratadas con el compuesto 1.1 (100 nM), el inhibidor IRAK1/4 (25  $\mu$ M) y la smaducina-6 (100 nM) durante 30 minutos, y luego fueron tratadas nuevamente con LPS (100 ng/ml) durante 2 horas. Se midió la actividad de la luciferasa en las células y los resultados se presentan en la FIG. 24B. El compuesto 1.1 de la presente invención inhibió selectivamente la actividad de la vía de señalización NF- $\kappa$ B, pero no suprimió las vías de señalización MAPK, que es importante para la actividad biológica de las células. Sin embargo, el inhibidor IRAK1/4 inhibió la vía de señalización MAPK, lo que puede dar lugar a la inhibición de los factores de transcripción del AP-1, de manera que, cuando se aplica en un sujeto biológico, pueden producirse efectos secundarios inesperados.

25

[0170] Los resultados de los ejemplos 2.1 a 2.11 arriba, indicaron que los compuestos de la presente invención pueden: 1) inhibir la expresión de la interleucina-6 y la actividad de NF- $\kappa$ B, que se inducen con el tratamiento de LPS; 2) interrumpir las vías de señalización inflamatoria mediadas por MyD88 y RIP1; y 3) proporcionar un índice similar de actividad de la enfermedad a menos dosis que la dosis de sulfasalazina que es la actual droga antiinflamatoria para la colitis. Además, cuando los compuestos de la presente invención se administran por vía oral, la concentración en el torrente sanguíneo es baja, mientras que la concentración efectiva se mantiene en las células y/o los tejidos. En particular, en los tejidos intestinales, la concentración efectiva de los mismos puede mantenerse incluso después de 8 horas desde su administración. Consiguientemente, los compuestos de la presente invención están utilizados para tratar la enfermedad inflamatoria en los tejidos intestinales, y particularmente, son utilizados de manera eficaz para prevenir, aliviar y tratar la enfermedad inflamatoria del intestino como la colitis ulcerosa, la enfermedad de Behcet, la enfermedad de Crohn y similares.

30

35

40

Ejemplo 2.12: Efecto en las células del epitelio pigmentario de la retina

[0171] El compuesto 1.1 influyó en los factores relacionados con la angiogénesis o en los factores de supresión.

[0172] Las células ARPE-19 fueron tratadas con 5.5mM de glucosa como control de referencia. Para el grupo experimental, las células ARPE-19 fueron tratadas con 30 mM de glucosa durante 48 horas para inducir una condición de altos niveles de glucosa en la sangre, y tratadas simultáneamente con DMSO, el compuesto 1.1 (10 nM), y el compuesto 1.1 (50 nM). Los cambios en la expresión de las proteínas Nox-4, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, Ang1, Ang2, Tie-2, EPO, y EPOR fueron medidos mediante análisis Western blot.

45

[0173] Ang1 y Tie-2, que son factores que controlan la hemorragia al reforzar el vaso sanguíneo, se incrementaron de acuerdo con el aumento de la concentración del compuesto 1.1 (FIG. 25A). Sin embargo, la expresión de Nox4 del factor productor de ROS (especies reactivas de oxígeno), el VEGF del factor inductor de nuevos vasos sanguíneos, el VEGFR1,2, el Ang2 del factor antagonista del Ang1, y el EPO y el EPOR de los factores de la retinopatía diabética se redujeron mediante el tratamiento con el compuesto 1.1.

[0174] Además, las células HRMEC fueron tratadas con 5,5mM de glucosa para el grupo de referencia. Para el grupo experimental, las células HRMEC fueron tratadas con 30 mM de glucosa durante 48 horas para inducir una condición de altos niveles de glucosa en la sangre, y simultáneamente fueron tratadas con DMSO, el compuesto 1.1 (10 nM), y el compuesto 1.1 (50 nM). Los cambios en la expresión de las proteínas Nox-4, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, Ang1, Ang2, Tie-2, EPO y EPOR se midieron cuantitativamente mediante qRT-PCR (RT-PCR cuantitativa). La expresión del precursor del VEGF como factor estimulante de nuevos vasos sanguíneos se redujo mediante el tratamiento con el compuesto 1.1 (FIG. 25B).

[0175] Para evaluar el efecto del compuesto 1.1 en la formación de tubos durante la angiogénesis, se cultivaron células HRMEC ( $8 \times 10^3$ ) en portaobjetos recubiertos de Matrigel y se trataron con 20 ng/ml de VEGF durante 4 horas para inducir la formación de tubos. Simultáneamente, para el grupo de referencia, las células fueron tratadas con DMSO, y para el grupo experimental, las células fueron tratadas con 50 nM del compuesto 1.1 y 1 $\mu$ M de calceína-AM. Las células se observaron con un microscopio de fluorescencia.

[0176] La FIG. 26 muestra imágenes de la formación de tubos en las células usando el microscopio de fluorescencia, que puede mostrar que el compuesto 1.1 suprimió la formación de tubos. De hecho, en las células ARPE-19 de las células del epitelio pigmentario de la retina humana, el compuesto 1.1 suprimió la expresión de las proteínas Nox-4, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, Ang2, EPO y EPOR según un gradiente de concentración de las mismas, y se observó una mayor expresión de Ang1 y Tie-2. Por lo tanto, el compuesto 1.1 se utiliza eficazmente para prevenir, aliviar o tratar las indicaciones oftálmicas como la retinopatía diabética. Además, al interrumpir la formación del complejo de la vía de señalización Myd88, el compuesto 1.1 se utiliza eficazmente para prevenir, aliviar o tratar la atrofia geográfica, la degeneración macular asociada con la edad-húmeda (la DMAE húmeda), la degeneración macular asociada con la edad - seca (la DMAE seca) y similares (Cell. 149(4), (2012); 847-859).

#### Ejemplo 2.13: Efecto sobre la retinopatía diabética

[0177] Se administró estreptozotocina (STZ) en una dosis de 50mg/kg a ratones diariamente durante 5 días, y se obtuvo un modelo de ratón con retinopatía diabética inducida. El grupo experimental del modelo de ratón fue inyectado con el compuesto 1.1, en una cantidad de 0,2  $\mu$ g en un ojo del ratón, desde el vigésimo hasta el vigésimo cuarto día siguiente a la administración, tres veces con dos días de intervalo. Después de 50 días de la administración, se recogió una muestra de RD que no fue tratada con el compuesto 1.1 y una muestra de RD tratada con el compuesto 1.1.

[0178] Los tejidos de la retina recogidos de cada grupo de ratones como se describe arriba se tiñeron con 5  $\mu$ M de dihidroetidio y se midieron las tasas de oxígeno activo de cada grupo (FIG. 27B). La muestra de RD inyectada con el compuesto 1.1 mostró una tasa de oxígeno activo reducida en comparación con la muestra de RD no tratada. Por consiguiente, el compuesto 1.1 de la presente invención se utiliza eficazmente para prevenir, aliviar o tratar las indicaciones oftálmicas como la retinopatía diabética de los experimentos biológicos con ratones.

#### Ejemplo 2.14: Efecto sobre la esclerosis múltiple

[0179] Para confirmar el efecto del compuesto 1.1 en la esclerosis múltiple, se sensibilizó a ratones (de 10 semanas de edad, hembras) con MOG35-55/CFU y PTX y se obtuvo un modelo experimental de ratón de encefalomiелitis autoinmune. Los métodos experimentales se describieron en Oncotarget, vol. 7 (2016), N° 13, 15382-15393.

[0180] Como se muestra en la FIG. 28A, el compuesto 1.1 se inyectó hipodérmicamente a una dosis de 1 mg/kg y 40 mg/kg durante 25 días, una vez cada dos días. Como grupo de referencia, se inyectó hipodérmicamente 10.000 unidades de Interferón-beta durante 25 días, una vez cada dos días. Se midió y presentó la puntuación clínica. En consecuencia, el compuesto 1.1 demostró ser eficaz en el tratamiento de la esclerosis múltiple con una dosis mínima de 1 mg/kg en comparación con el medicamento convencional interferón-beta utilizado actualmente para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

5 [0181] Además, cuando se midieron los cambios en los pesos corporales de cada grupo experimental, el grupo tratado con el compuesto 1.1 no tuvo un peso reducido en comparación con el grupo modelo de enfermedad EAE (FIG. 28B). En otras palabras, el compuesto 1.1, en comparación con la actual droga primaria para el tratamiento de la esclerosis múltiple, por ejemplo el interferón-beta, mostró el mismo o mayor efecto y seguridad del tratamiento y, por lo tanto, se utiliza eficazmente para prevenir, aliviar o tratar la esclerosis múltiple en el modelo experimental de encefalomiелitis autoinmune.

#### Ejemplo 2.15: Efecto sobre la septicemia

10 [0182] Para confirmar los efectos del compuesto 1.1 sobre la septicemia, se anestesió a 10 ratones de cada grupo (de 7 semanas de edad, machos), y después se expusieron los apéndices mediante una incisión en el abdomen. Se ató la porción inferior de la válvula ileocecal del apéndice expuesto y se hizo un solo agujero utilizando una aguja de jeringa de calibre 22. El apéndice tratado se reinsertó en la cavidad abdominal y se injertó con hilo para obtener un modelo de ratón inducido por la septicemia (modelo de ligadura y punción cecal, modelo CLP). Los métodos experimentales se describieron en EMBO Mol Med. (2015) 12 de marzo; 7(5):577-92.

15 [0183] Se inyectó hipodérmicamente el compuesto 1.1 a los ratones tratados a una dosis de 1 mg/kg, después de 2 horas del procedimiento de CLP, con intervalos de 12 horas, tres veces. Como control de referencia, se inyectó hipodérmicamente la smaducina-6 a una dosis de 12 mg/kg como el mismo método utilizado para el compuesto 1.1. Se midieron las tasas de supervivencia de los ratones de cada grupo (FIG. 29). El grupo de control comparativo no fue tratado después de la incisión del abdomen y la anastomosis, el grupo comparativo CLP+PBS fue tratado con un tampón fosfato salino (PBS) en lugar del compuesto de la droga después de la preparación del modelo CLP. Como resultado, el compuesto 1.1 (1 mg/kg) fue eficaz para el tratamiento de la septicemia, la cual no se ha tratado previamente con medicamentos convencionales en dosis bajas en comparación con las altas dosis de smadudina-6 (por ejemplo, 12 mg/kg), con una tasa de supervivencia del 60%. En otras palabras, el compuesto 1.1 fue eficaz en el modelo de ligadura y punción fecal (CLP), lo que indica que el compuesto 1.1 se utiliza eficazmente para prevenir, aliviar o tratar la septicemia.

25 <Formulación 1> Gránulos

Compuesto de la Fórmula 1 2g

Lactosa 1g

[0184] Los gránulos fueron preparados de acuerdo con el método conocido en la técnica.

<Formulación 2> Comprimidos

30 Compuesto de la Fórmula 1 100 mg

Almidón de maíz 100 mg

Lactosa 100 g

Magnesio estérico 2 mg

[0185] Los comprimidos fueron preparados de acuerdo con el método conocido en la técnica.

35 <Formulación 1> Cápsulas

Compuesto de la Fórmula 1 100g

Almidón de maíz 100 mg

Lactosa 100 mg

Magnesio estérico 2 mg

40 [0186] Las cápsulas fueron preparadas de acuerdo con el método conocido en la técnica.



<Formulación 4> Inyecciones

Compuesto de Fórmula 1 100g

Manitol 180 mg

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 2H<sub>2</sub>O 26 mg

5 Agua destilada 2974 mg

0187] Las inyecciones fueron preparadas de acuerdo con el método conocido en la técnica.

Referencias

[0188]

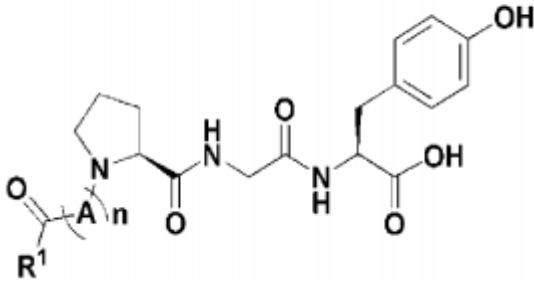
1. Toxicology and Applied Pharmacology 279 (2014) 311-321
- 10 2. International Immunopharmacology 23 (2014) 294-303
3. Seminars in Immunology 26 (2014) 75-79
4. Neurobiology of Aging 22 (2001) 863-871
5. J. Immunology 175 (2005) 3463-3468
6. Prot Natl Acad Sci. 86 (1989) 6367-6371; J. Immunol. 143 (1989) 3949-3955; Nature 332 (1988) 83-85
- 15 7. FASEB J. 4 (1990) 2860-2867
8. J. Immunol. 147 (1991) 2777-2786
9. Cell 46(5) (1986) 705-16
10. Annu Rev Immunol. 16 (1998) 225
11. Nature 395 (1998) 297-300; Cell 93 (1998) 1231-1240
- 20 12. Nature 449 (2007), 361-365
13. American Journal of Pathology, 162(2), (2003)
14. Nature Immunol. 6, (2005), 507-514
15. J Cell Physiol. 196(2): (2003); 258-64
16. Nature Protocols, 8(3), (2013) 627-637.
- 25 17. The Journal of Clinical Investigation, 124(11), (2014), 4976-4988.
18. J. Virology, 86(12), (2012), 6595-6604.
19. J. Clin. Invest., 111 (2003), 1297-1308.
20. Immunity, 10 (1999), 39-49.
21. Eur. J. Immunol., 36 (2006), 864-874.
- 30 22. Immunity, 25 (2006), 319-329.
23. Cell 118 (2004), 229-241.

24. J. Immunol. 179 (2007), 2690-2694.
25. Oncotarget, Vol. 7 (2016), No. 13, 15382-15393.
26. Cell. 149(4), (2012); 847-859.
27. Nature Medicine, 19(5), (2013), 595-602.
- 5 28. J. Immunol., 187 (2011), 1-14.
29. J. Inv. Derm., 132 (2012), 43-49.
30. Med. Inflamm., (2010), Article ID 928030
31. Hair The Transplant, 4 (2014), 4:1
32. Exp. Derm., 17 (2007), 12-19
- 10 33. DDT Dis. Mech. 5 (2009), e163-171
34. EMBO Mol Med. (2015) Mar 12; 7(5):577-92
35. Expert opinion on emerging drugs (2015) 20(3):349-352
36. Cell. (2010) March 19; 140(6): 883-899
37. Progress in Retinal and Eye Research 37(2013) 68e89
- 15 38. P&T 41(2016), Jun no 6
39. Gut 56(2007):725-732.
40. World J Gastroenterol (2005);11 (16):2462-2466

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente Fórmula 1, un isómero óptico de la misma, o una sal farmacéutica aceptable de la misma.

[Formula 1]



5

en el que:

n es 0, 1, o 2;

A es -a1-, que es un aminoácido seleccionado independientemente del grupo formado por alanina, (Ala, A), arginina (Arg, R), asparagina (Asn, N), ácido aspártico (Asp, D), cisteína (Cys, C), ácido glutámico (Glu, E), glutamina (Gln, Q), glicina (Gly, G), histidina (His, H), isoleucina (Ile, I), leucina (Leu, L), lisina (Lys, K), metionina (Met, M), fenilalanina (Phe, F), prolina (Pro, P), serina (Ser, S), treonina (Thr, T), triptófano (Trp, W), tirosina (Tyr, Y) y valina (Val, V), acoplándose ambos extremos terminales del aminoácido a un grupo carbonilo o a un grupo amina mediante un enlace amida; y

10

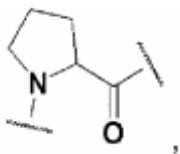
R1 es un alquilo C1-36 de cadena recta o ramificada, un alquenilo C2-36 de cadena recta o ramificada que incluye al menos un doble enlace, o un alquelino C2-36 de cadena recta o ramificada que incluye al menos un triple enlace.

15

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que:

n es 0, 1, o 2;

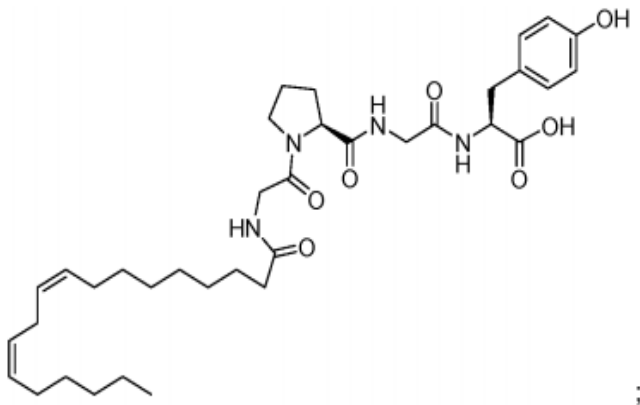
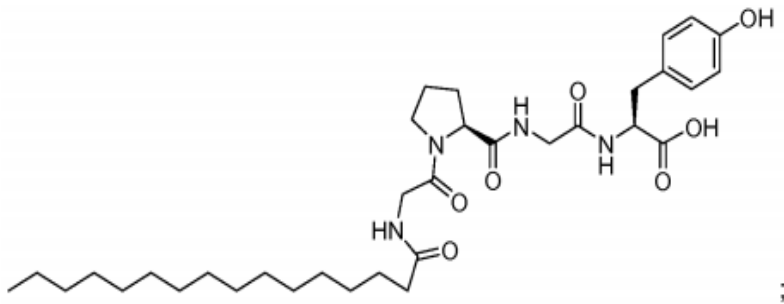
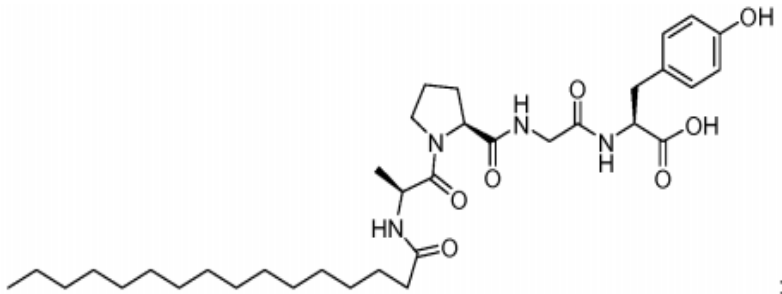
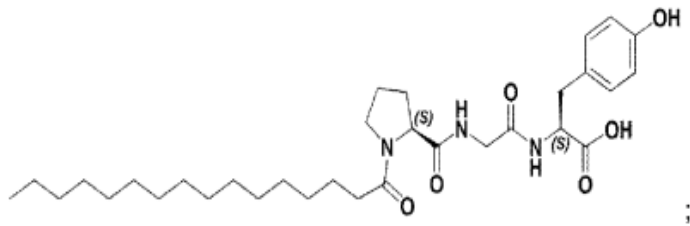
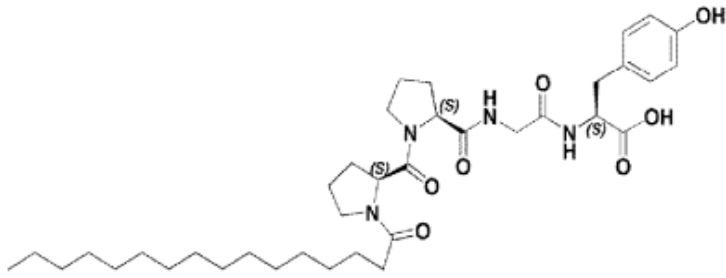
a1 es

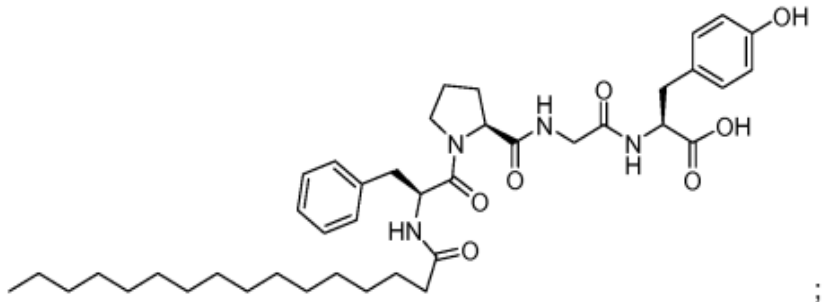


20

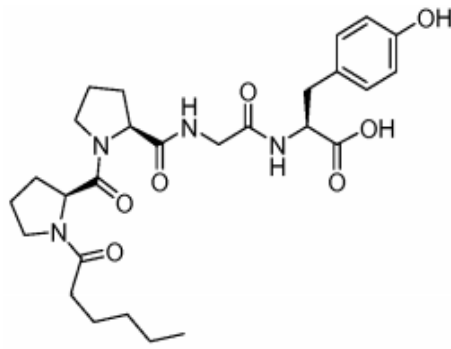
cuyos dos extremos terminales están acoplados a un grupo de carbonilo o a un grupo de amida del mismo por un enlace de amida; y R1 es un alquilo C1-36 de cadena recta o ramificada.

3. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en los siguientes compuestos.

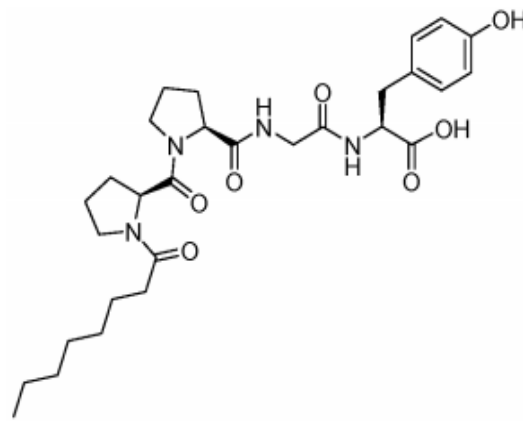




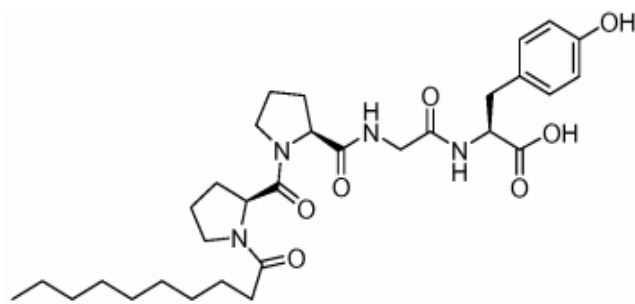
;



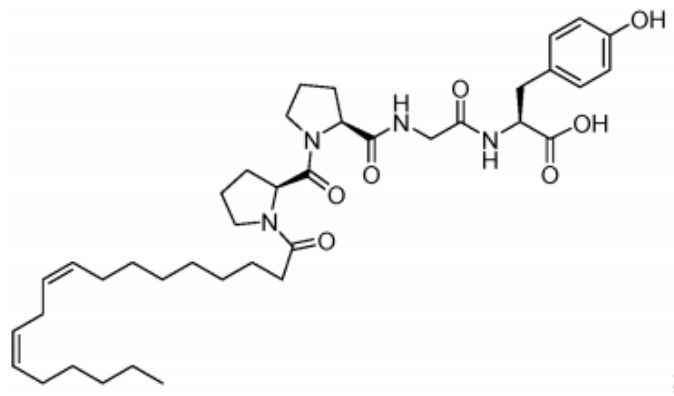
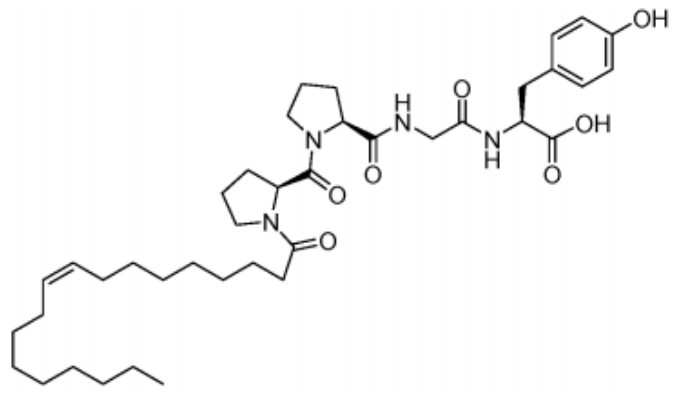
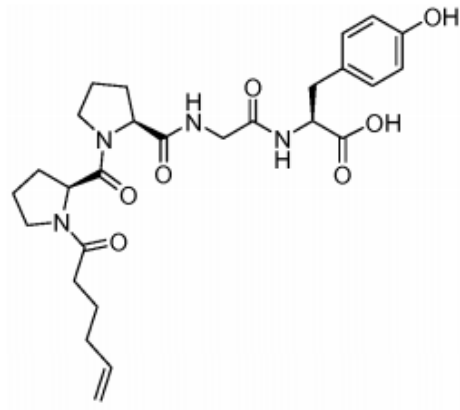
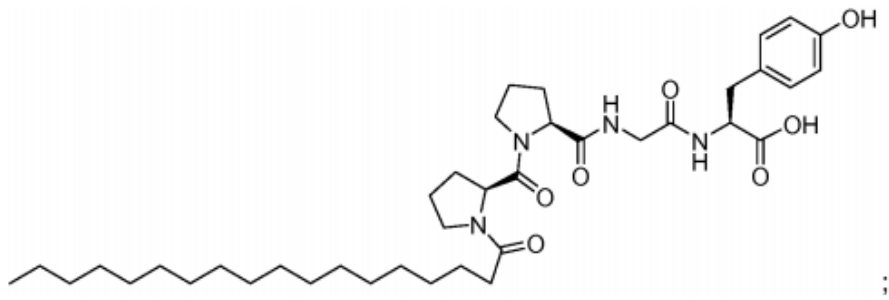
;

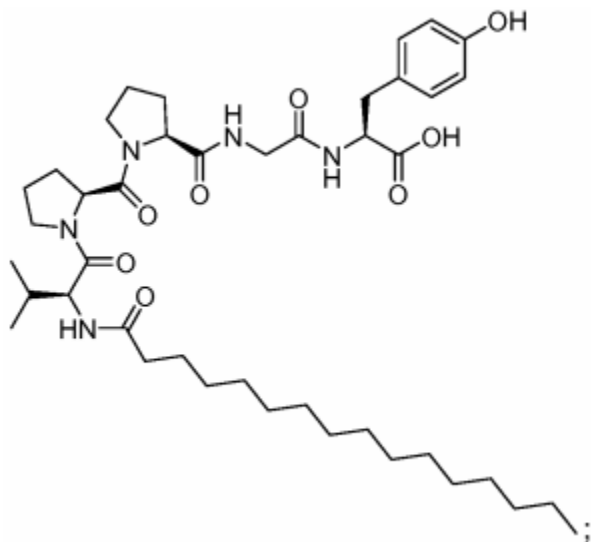


;



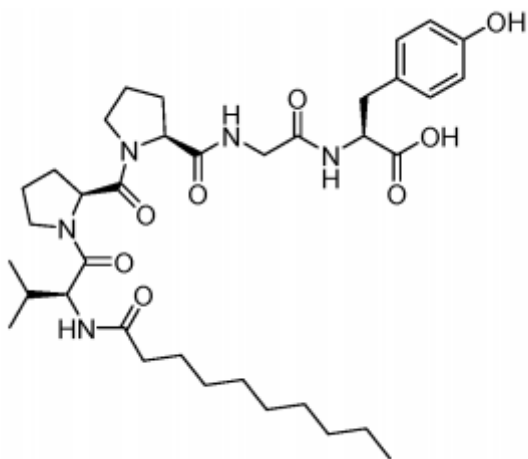
;





y

5



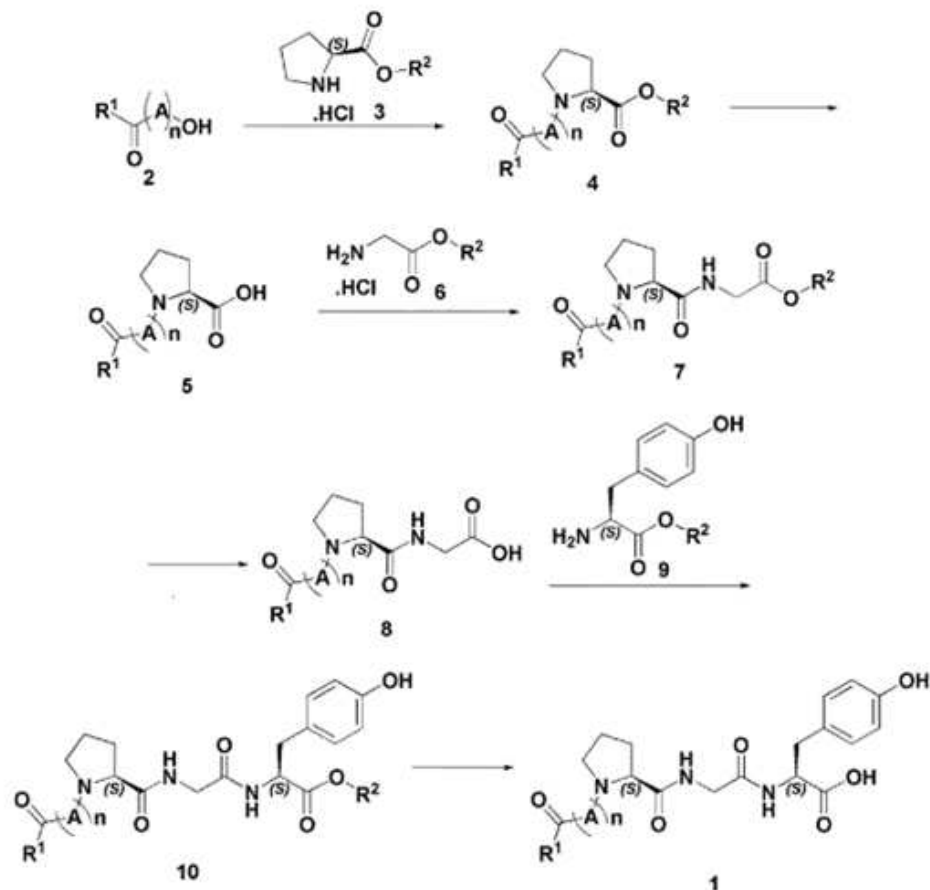
4. Un método para preparar el compuesto de la reivindicación 1 representado por la Fórmula 1, que comprende, como se representa en el siguiente Esquema de reacción 1:

- 10 reaccionar un compuesto 2 con un compuesto 3 para preparar un compuesto 4;  
 hidrolizar el compuesto 4 en presencia de una base para preparar un compuesto 5;  
 reaccionar el compuesto 5 con un compuesto 6 para preparar un compuesto 7;  
 hidrolizar el compuesto 7 en presencia de una base para preparar un compuesto 8;

reaccionar el compuesto 8 con un compuesto 9 para preparar un compuesto 10; e

hidrolizar el compuesto 10 en presencia de una base para preparar el compuesto de la reivindicación 1.

[Esquema de Reacción 1]



5 en el cual A, R<sub>1</sub> y n son los mismos que se definen en la reivindicación 1 y R<sub>2</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-5 de cadena recta o ramificada.

5. Una composición para el uso en la prevención, mejora o tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, que comprende, como componente activo, el compuesto, el isómero óptico o la sal de la reivindicación 1.

10 6. La composición para el uso de la reivindicación 5, en la que la enfermedad inflamatoria intestinal incluye la colitis ulcerosa, la enfermedad de Behcet y la enfermedad de Crohn.

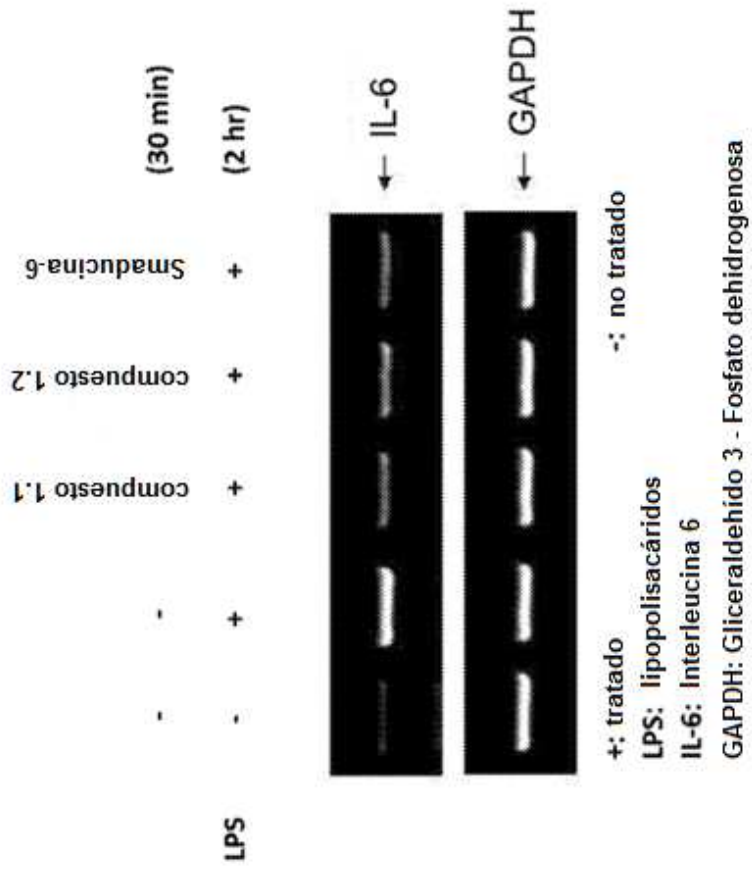
7. Una composición para el uso en la prevención, mejora o tratamiento de una enfermedad o síndrome, que comprenda, como componente activo, el compuesto, el isómero óptico o la sal de la reivindicación 1, en la que la enfermedad o síndrome incluye la atrofia geográfica, la deterioración macular asociada con la edad - húmeda, la deterioración macular asociada con la edad - seca, y la retinopatía diabética

15 8. La composición para el uso de la reivindicación 7, en la que el compuesto, el isómero óptico o la sal de la reivindicación 1 tiene un efecto farmacéutico sobre las células del epitelio pigmentario de la retina.

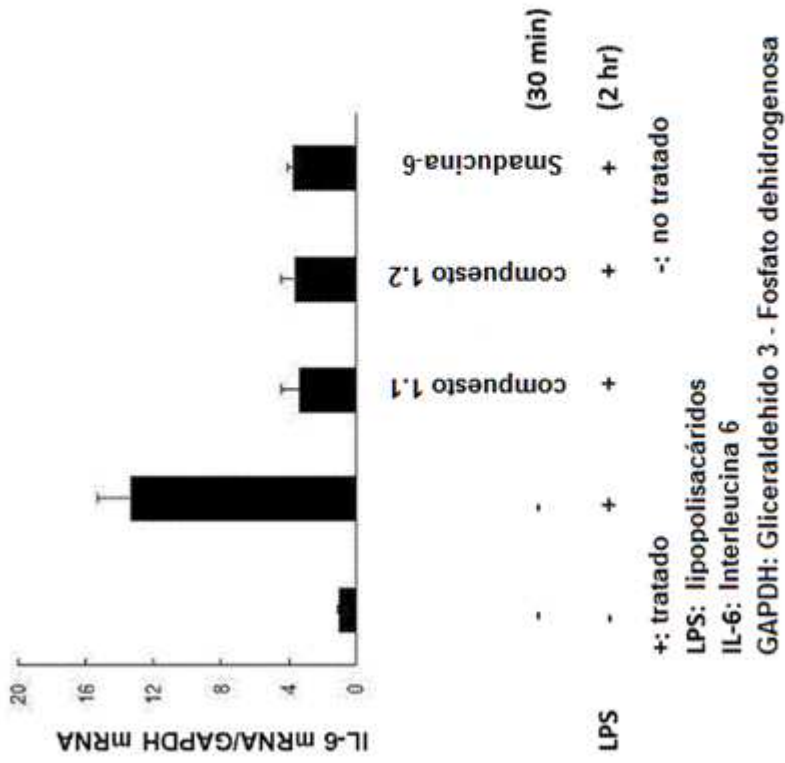


9. Una composición para el uso en la prevención, mejora o tratamiento de una enfermedad o síndrome, que comprende, como componente activo, el compuesto, el isómero óptico o la sal de la reivindicación 1, en la que la enfermedad o el síndrome incluye la sepsis y la esclerosis múltiple.

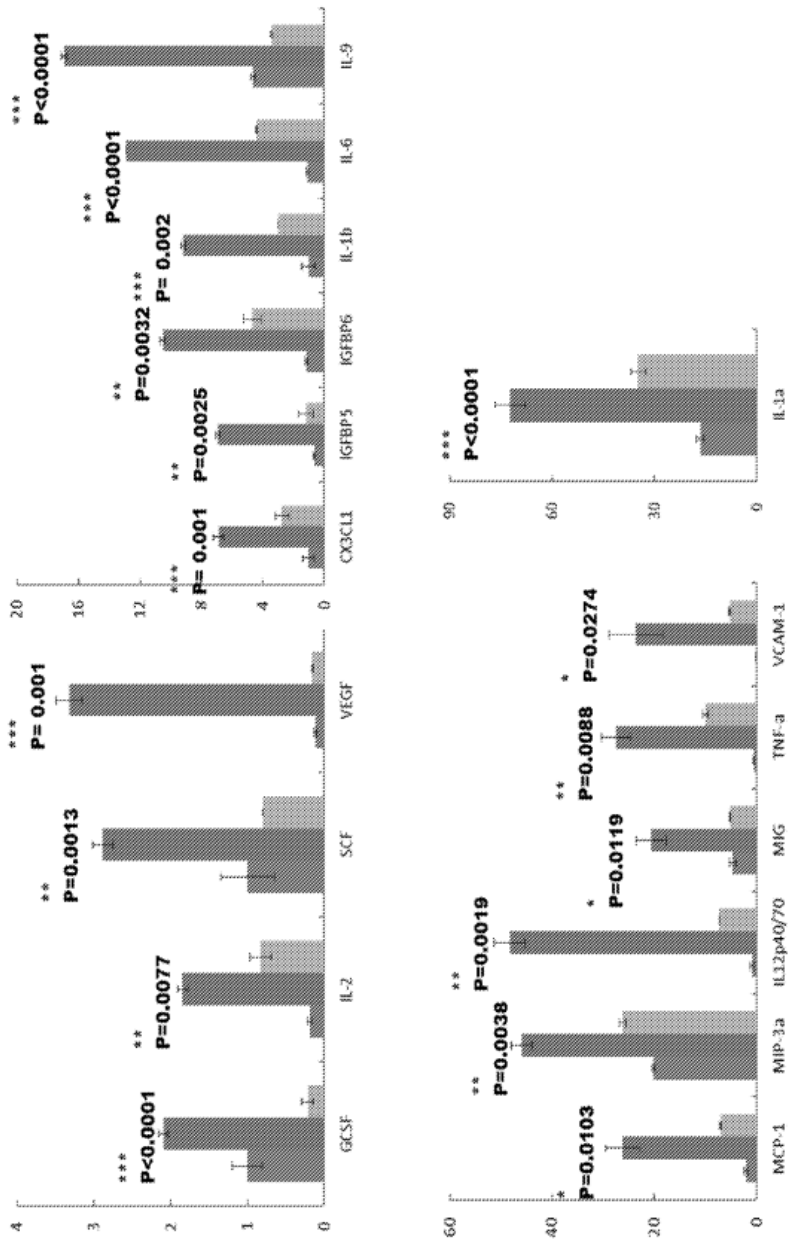
5 10. Una composición para el uso en la prevención, mejora o tratamiento de una enfermedad o síndrome, que comprende, como componente activo, el compuesto, el isómero óptico o la sal de la reivindicación 1, en la que la enfermedad o el síndrome incluye la psoriasis, las enfermedades infecciosas pulmonares, la neumonía bacteriana, la neumonía viral, el linfoma difuso de células B grandes, la infección viral, las enfermedades autoinmunes, el cáncer sanguíneo, incluido el linfoma, y los tumores de los órganos internos.



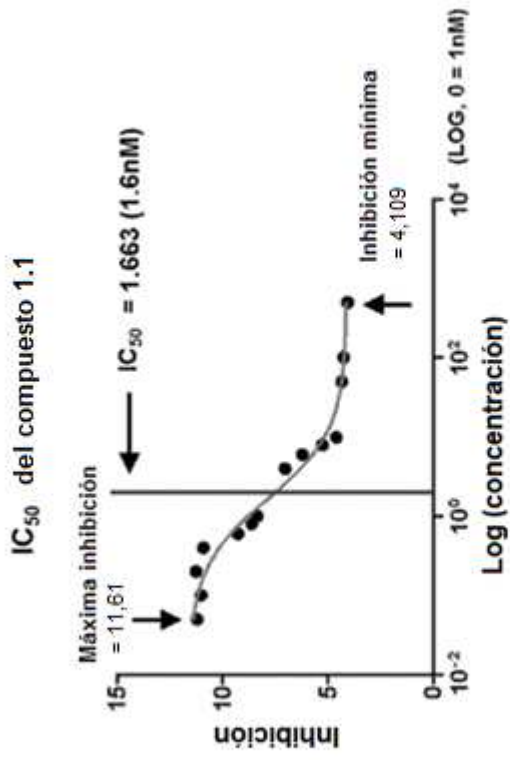
**FIG. 1A**



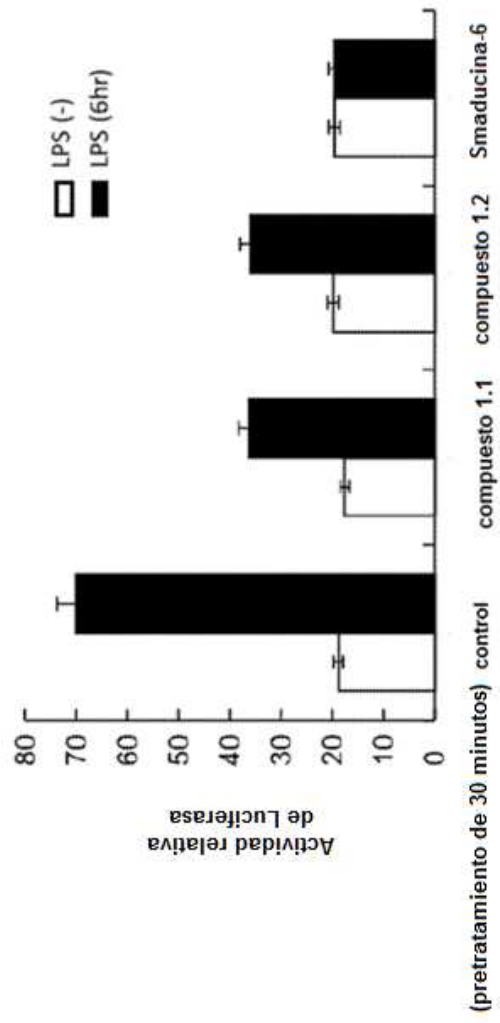
**FIG. 1B**



**FIG. 2**



**FIG. 3**



**FIG. 4**

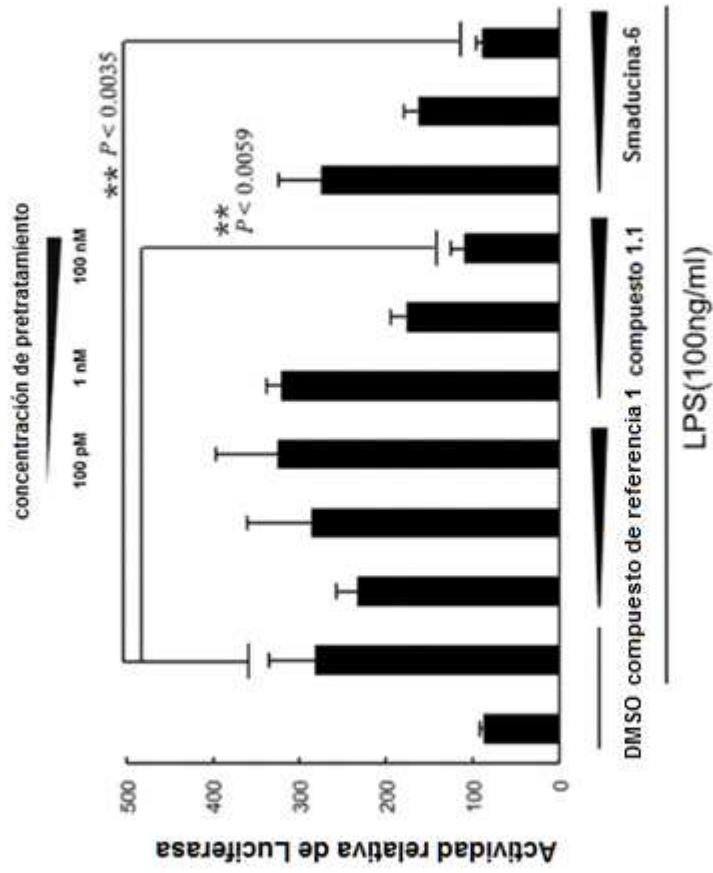


FIG. 5

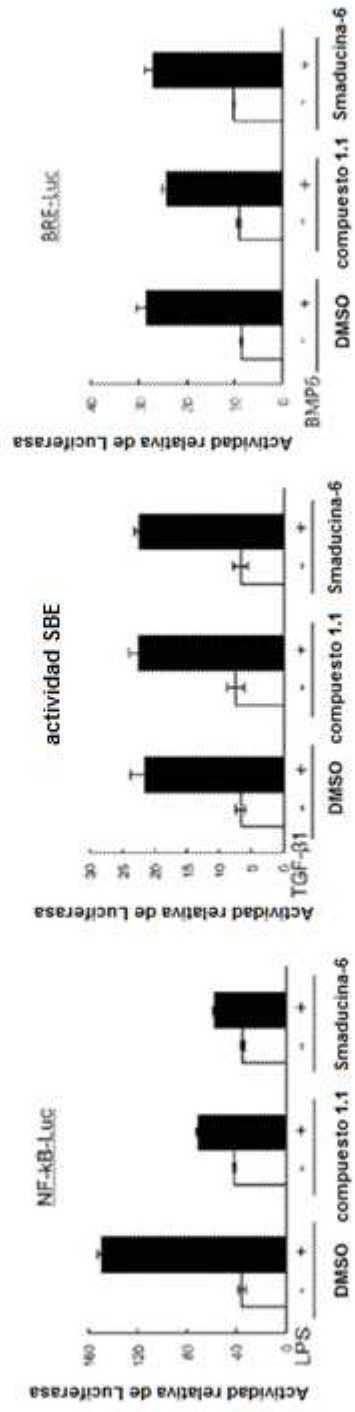


FIG. 6



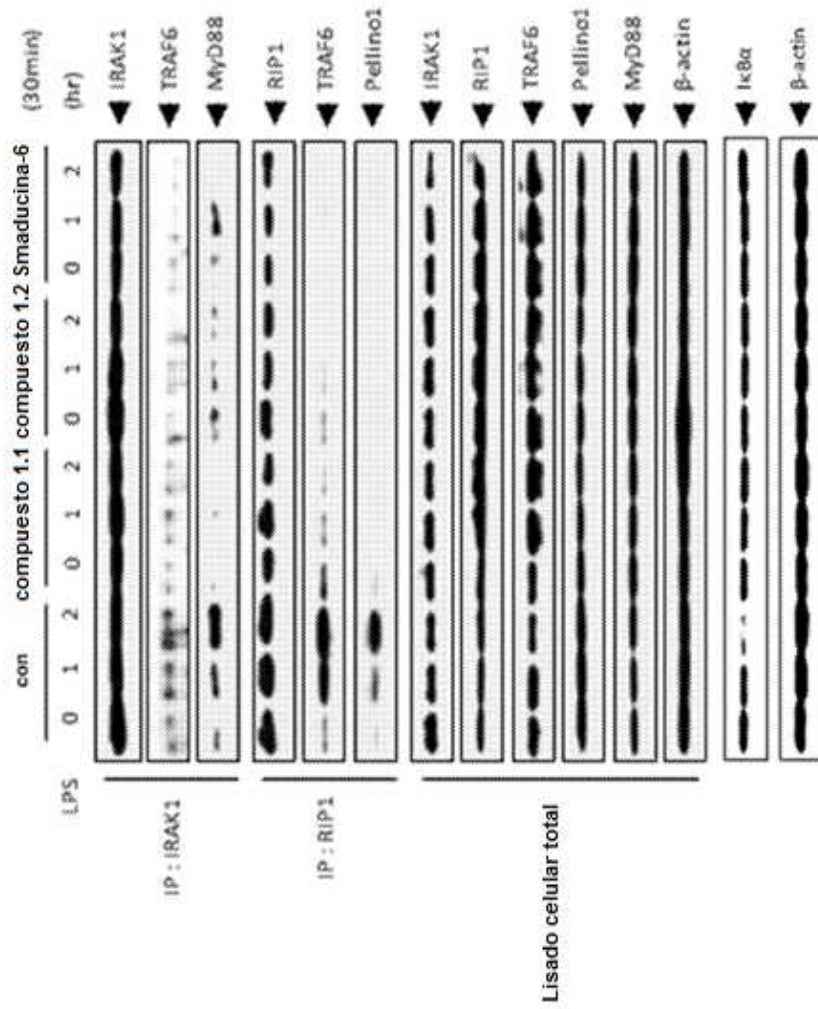


FIG. 7

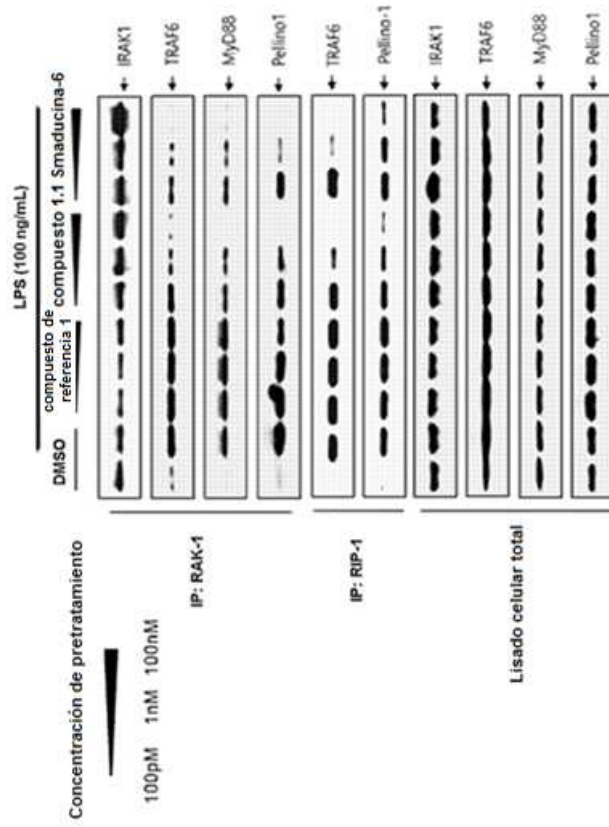
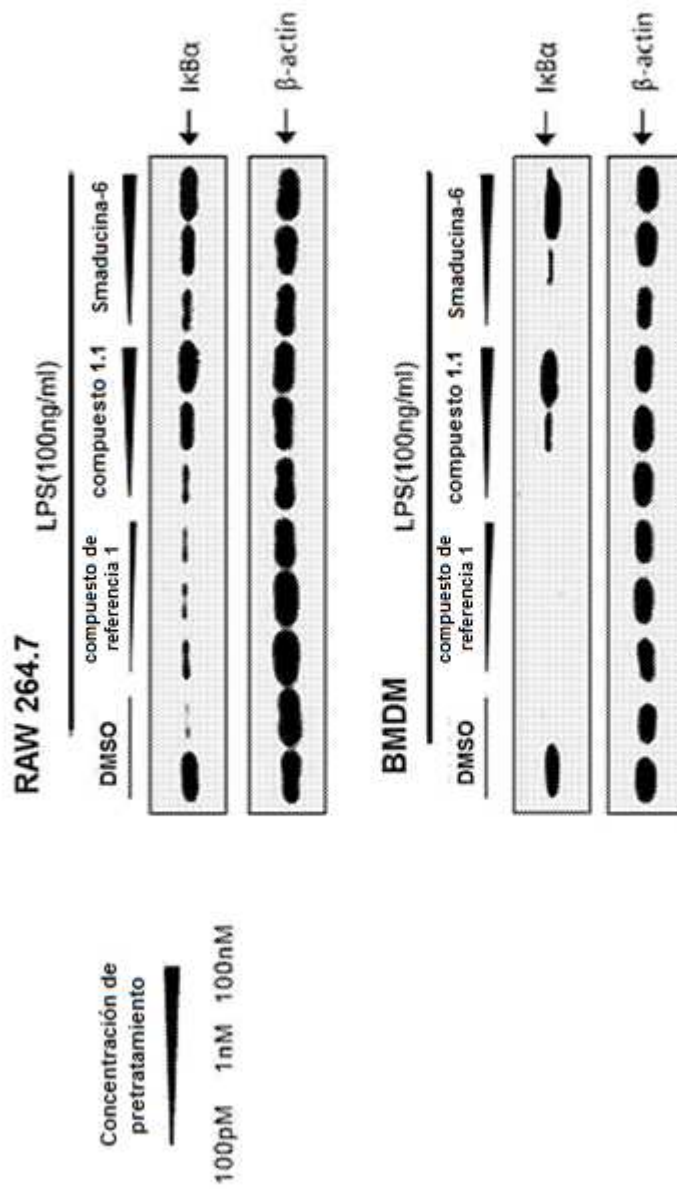


FIG. 8



**FIG. 9**

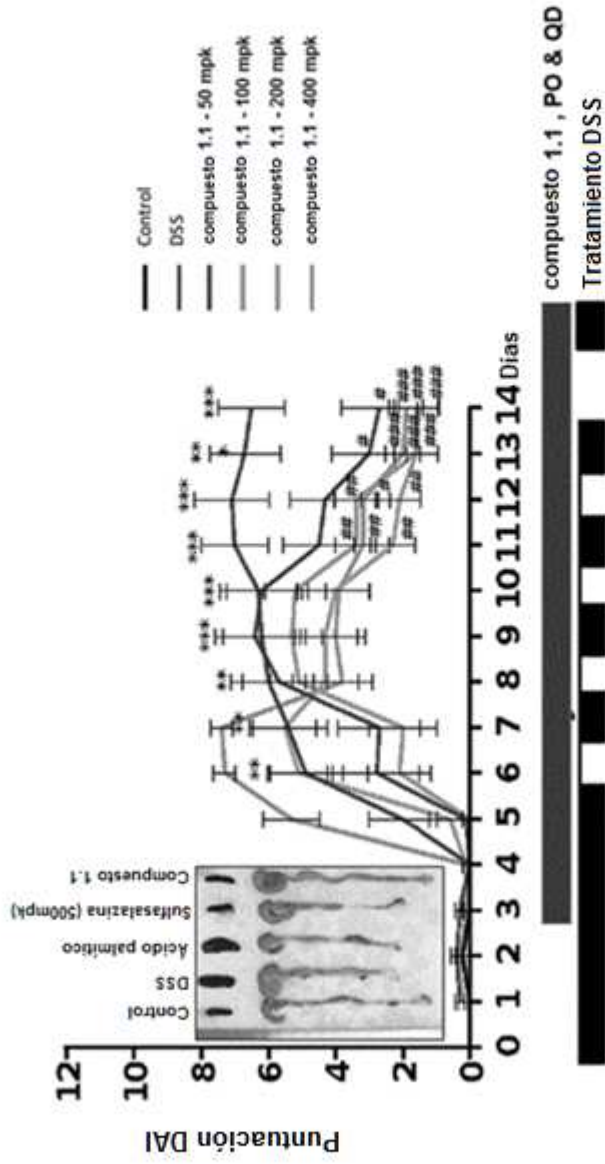


FIG. 10

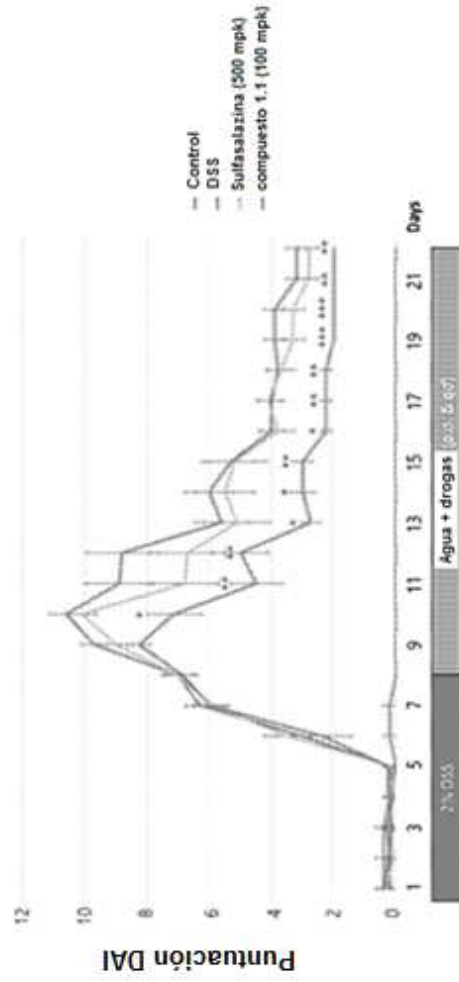


FIG. 11A

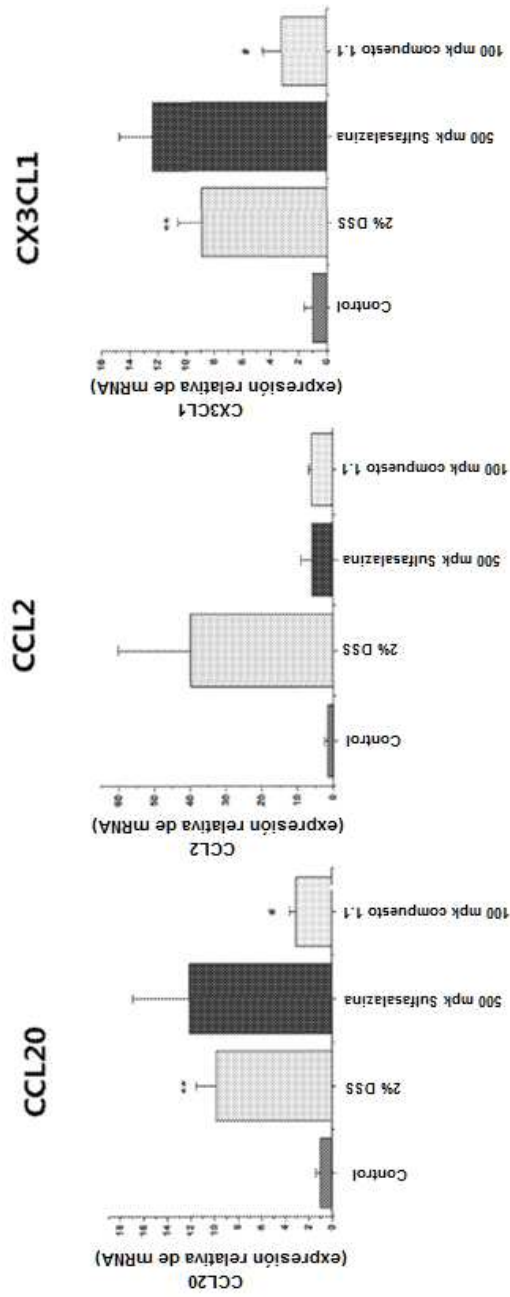
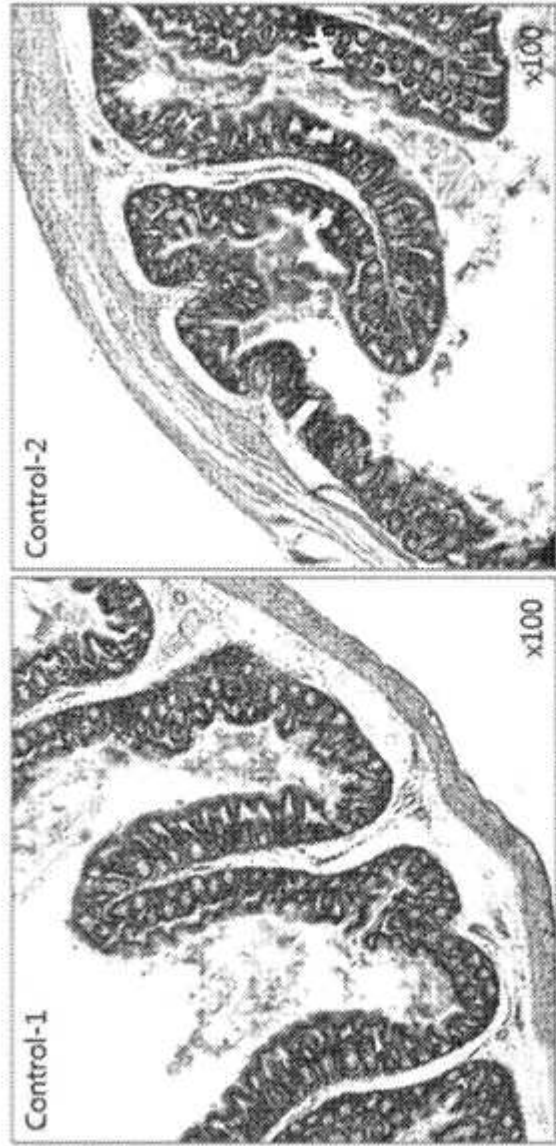
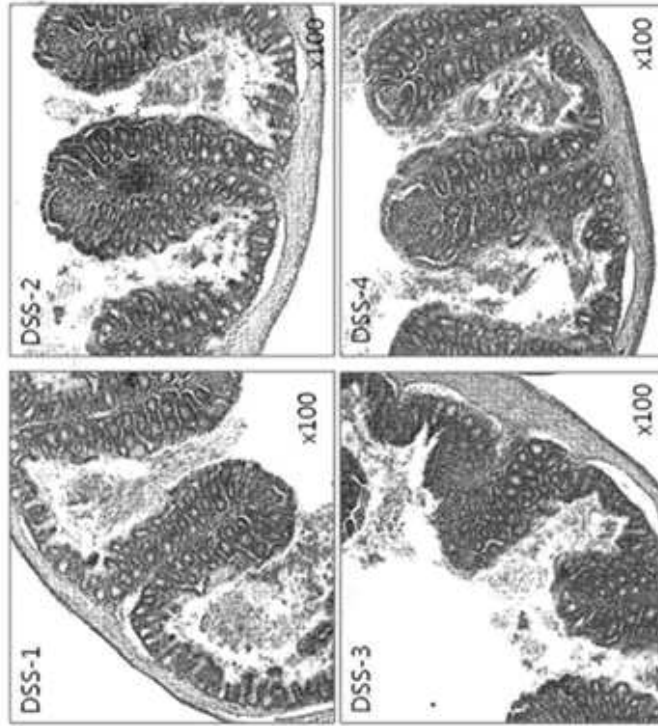


FIG. 11B



Control: sin tratamiento

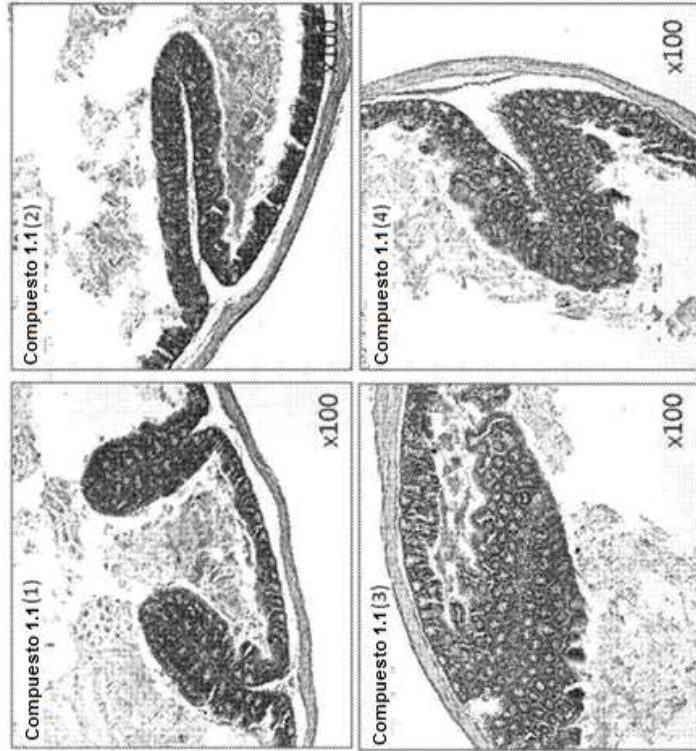
**FIG. 12**



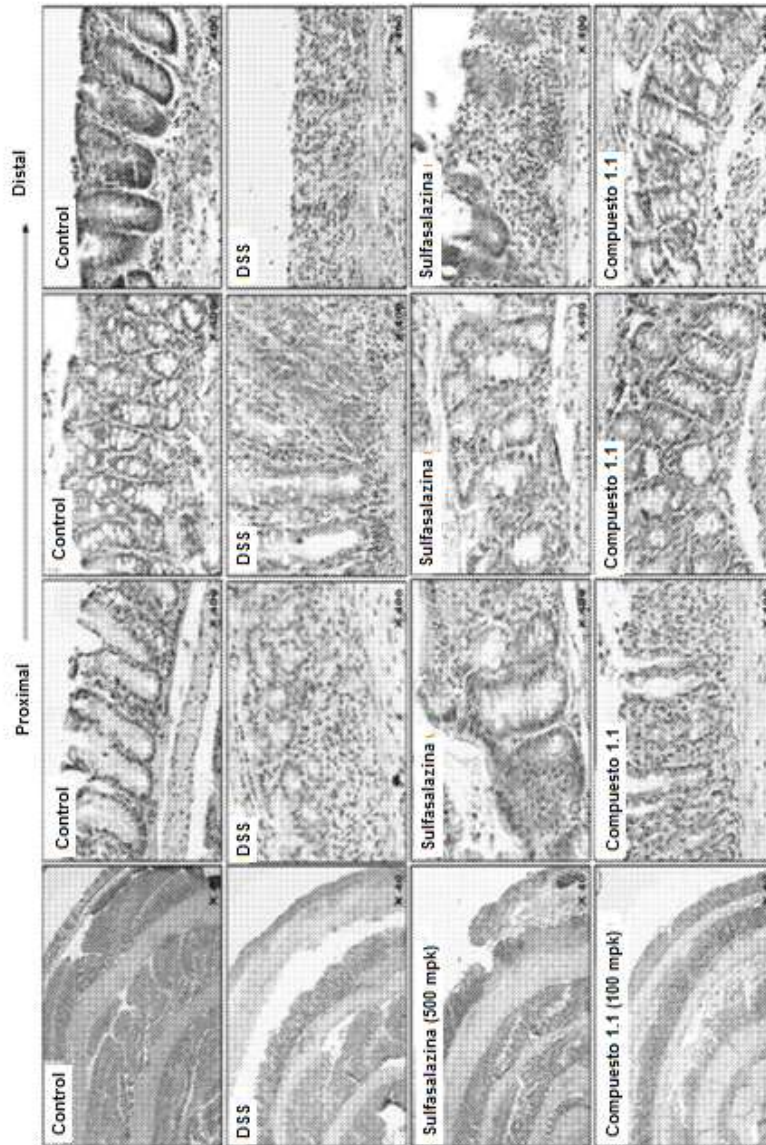
DSS: tratado con dextrano sulfato de sodio (DSS)

**FIG. 13**

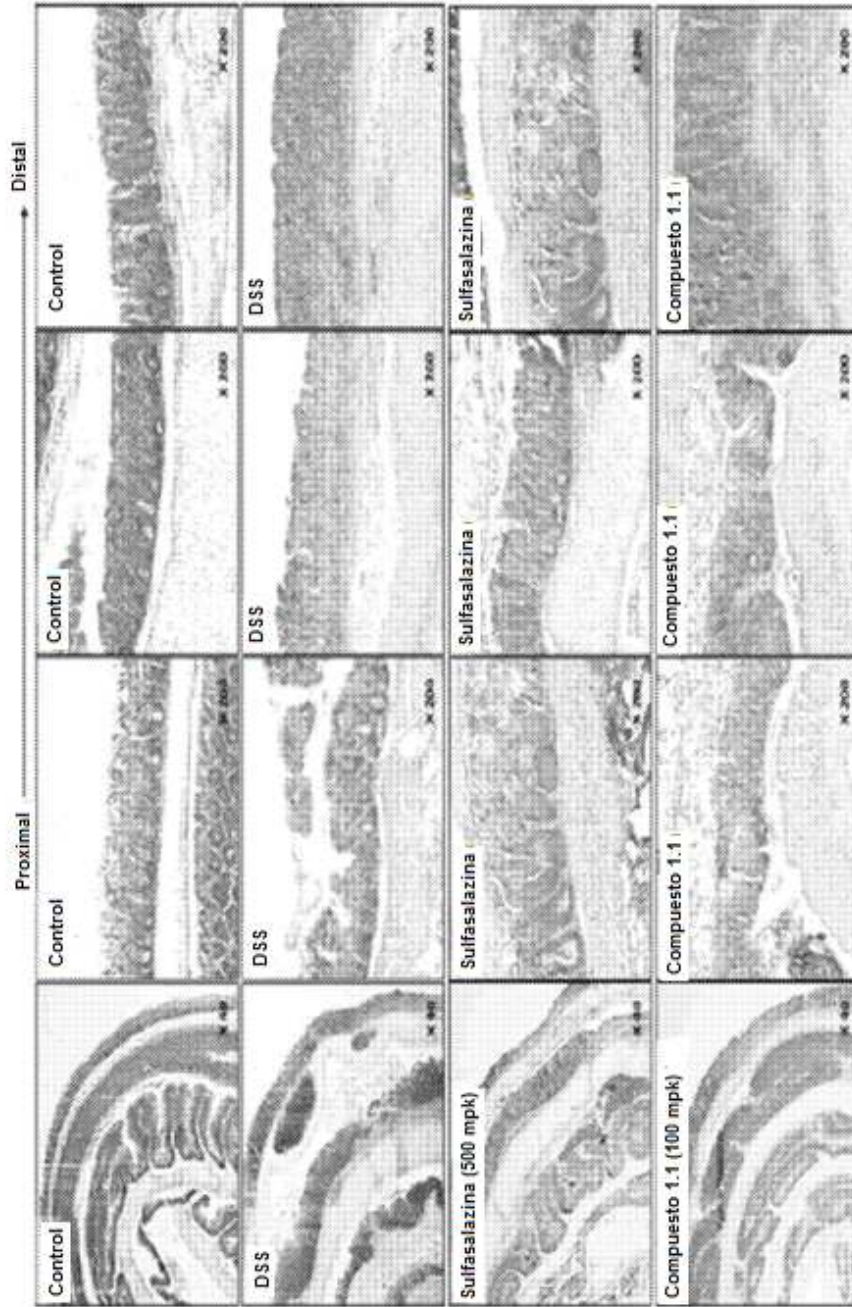




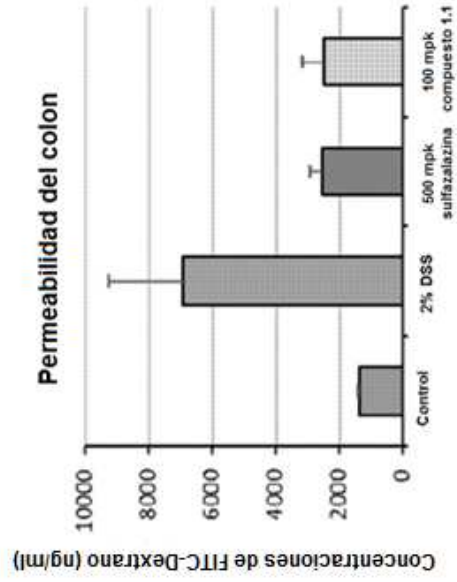
**FIG. 14**



**FIG. 15**



**FIG. 16**



**FIG. 17**

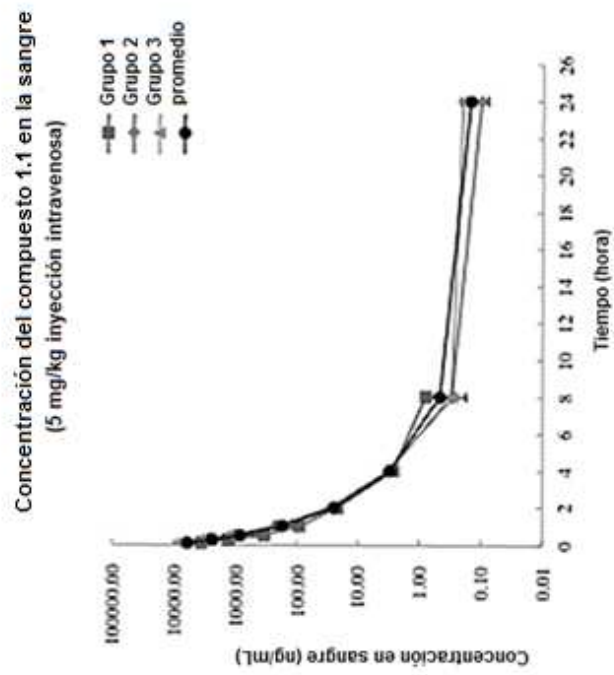
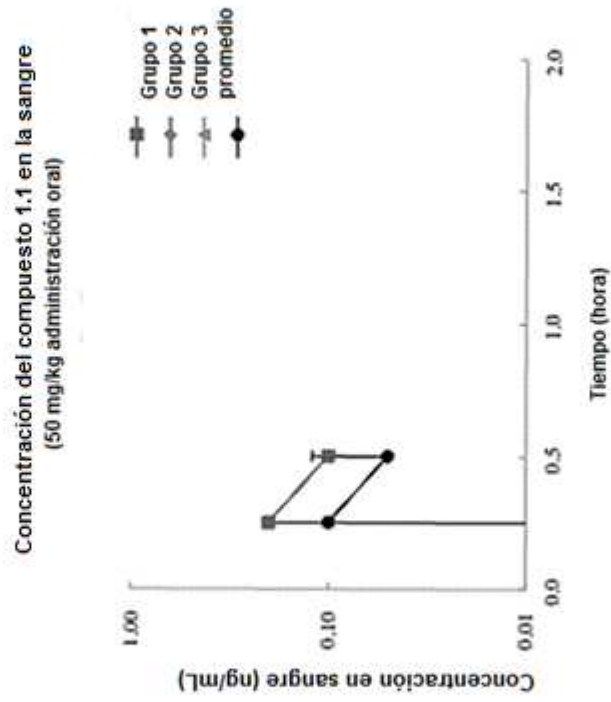


FIG. 18



**FIG. 19**

Vía de señalización de los receptores tipo Toll

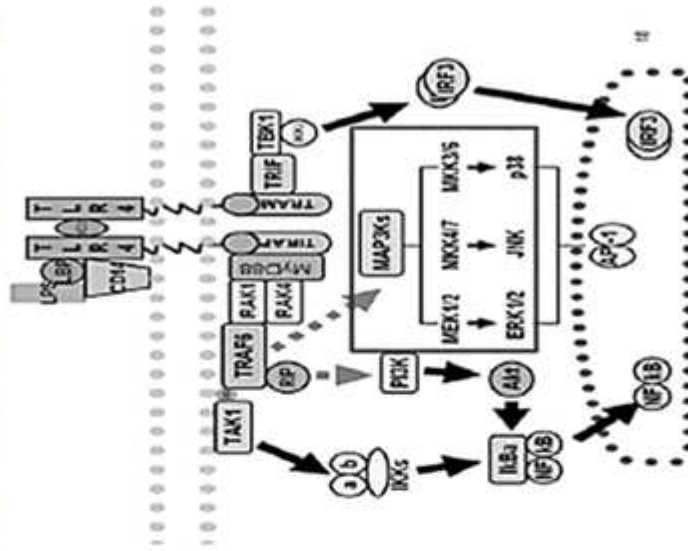


FIG. 20B

Vía MAPK (ensayo Western Blot)

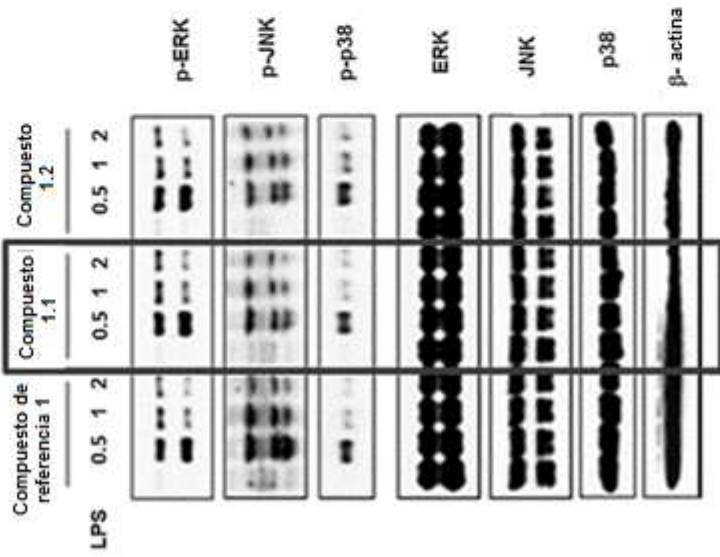


FIG. 20A

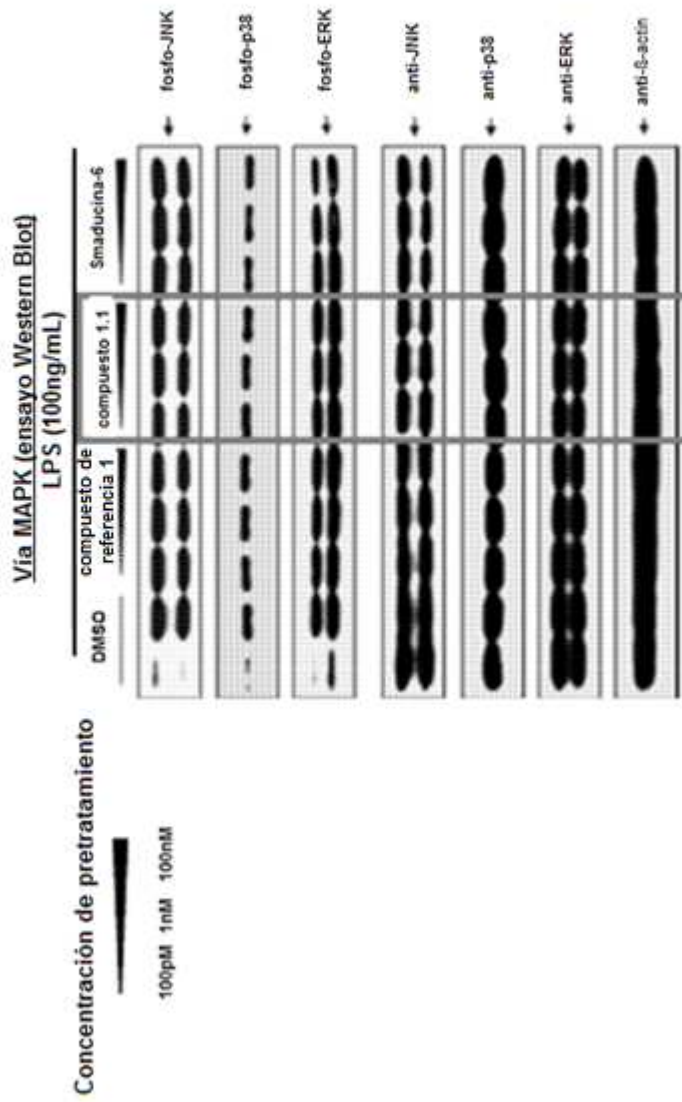
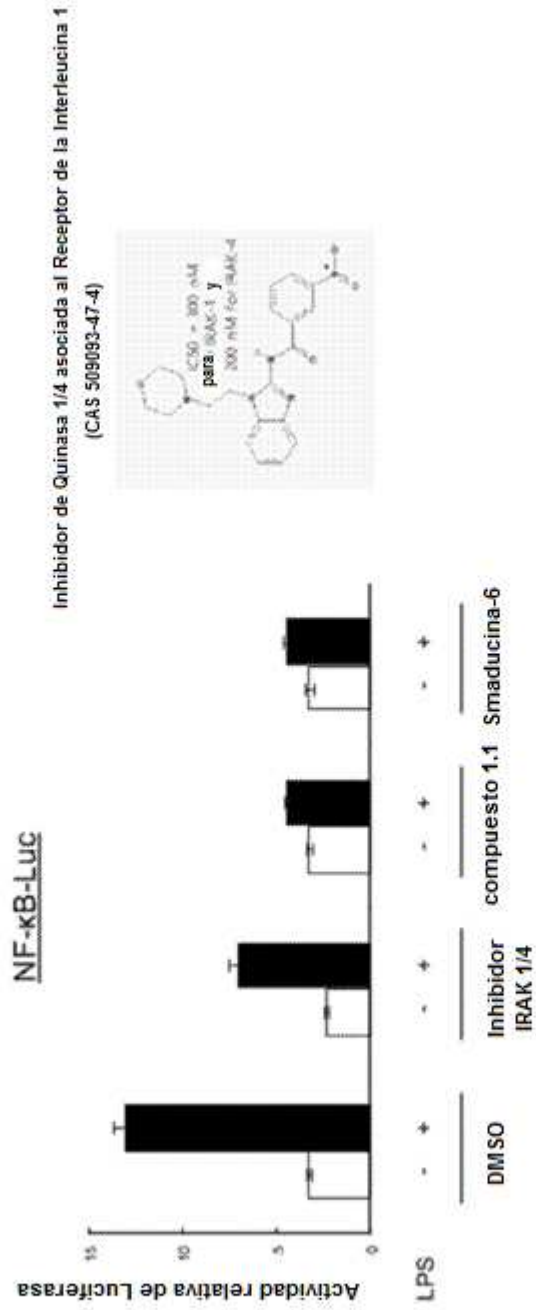


FIG. 21





**FIG. 22A**

**FIG. 22B**

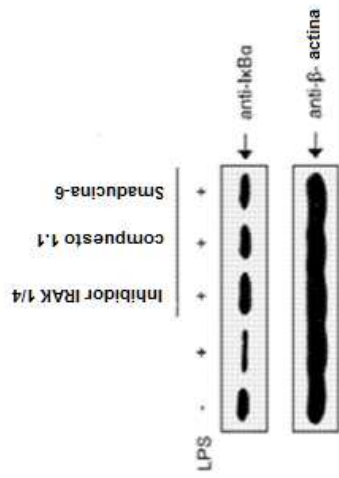


FIG. 23A

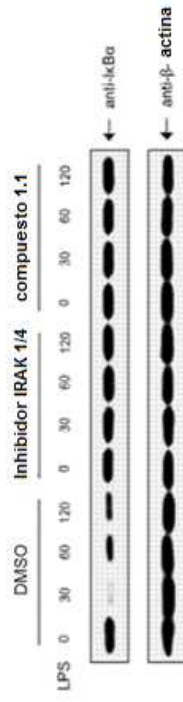


FIG. 23B

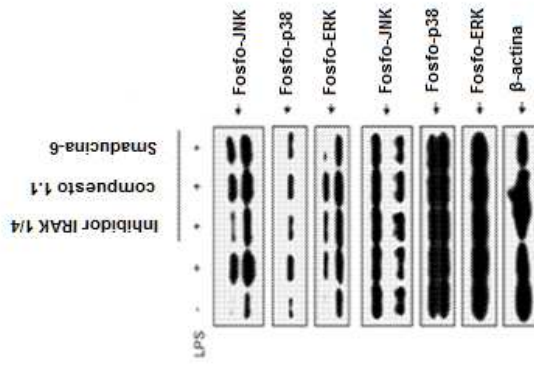


FIG. 24A

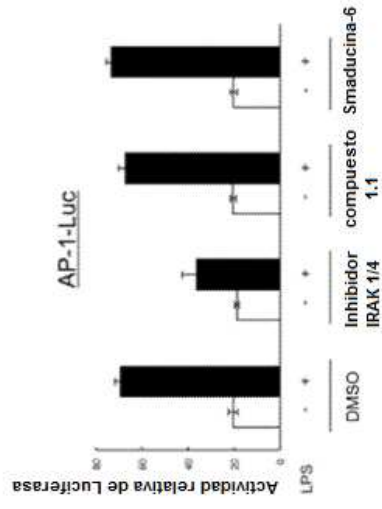
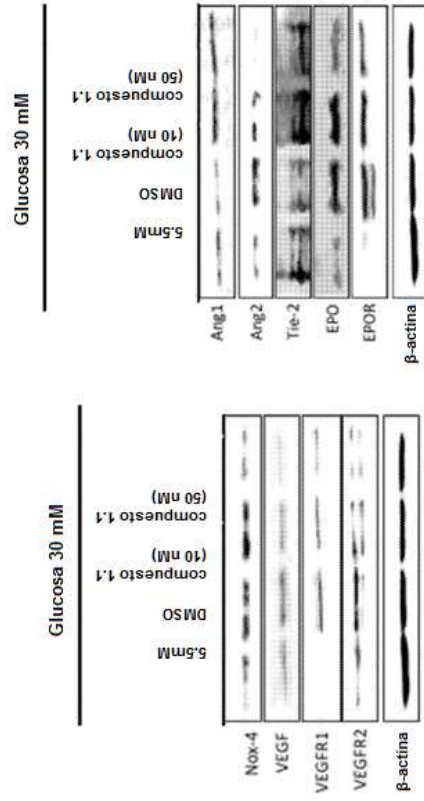
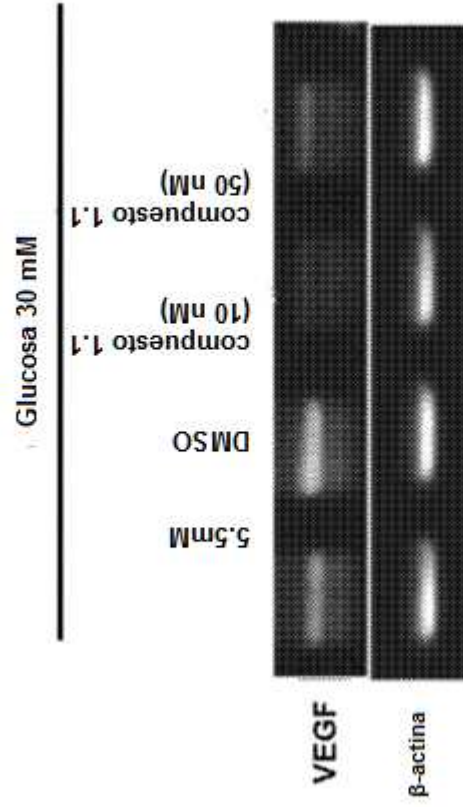


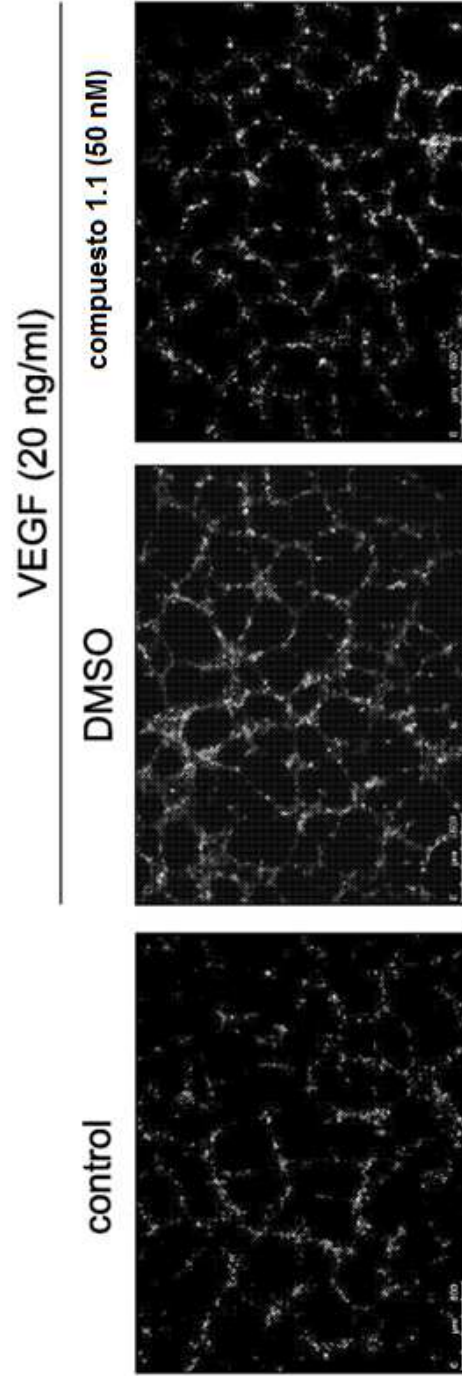
FIG. 24B



**FIG. 25A**



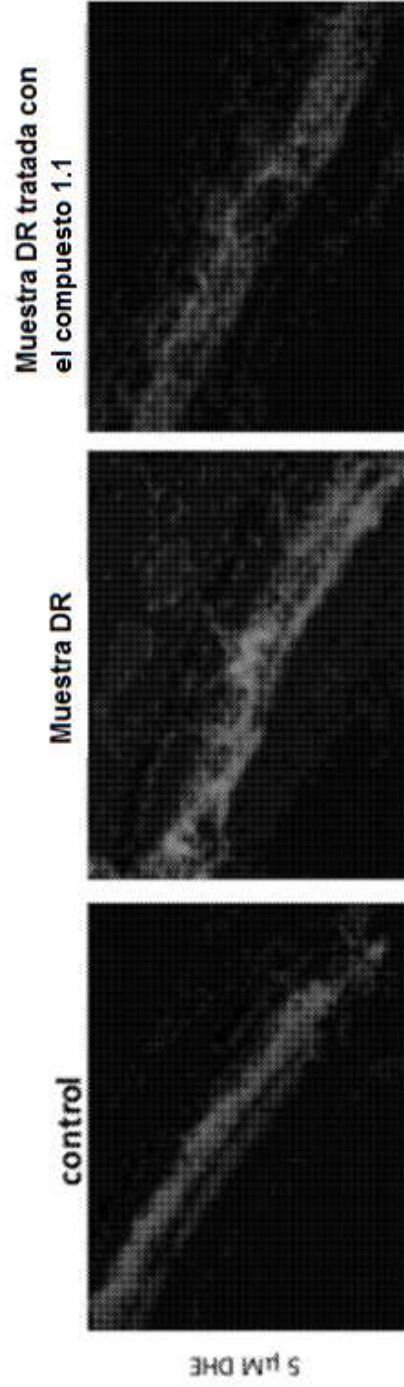
**FIG. 25B**



**FIG. 26**



**FIG. 27A**



**FIG. 27B**



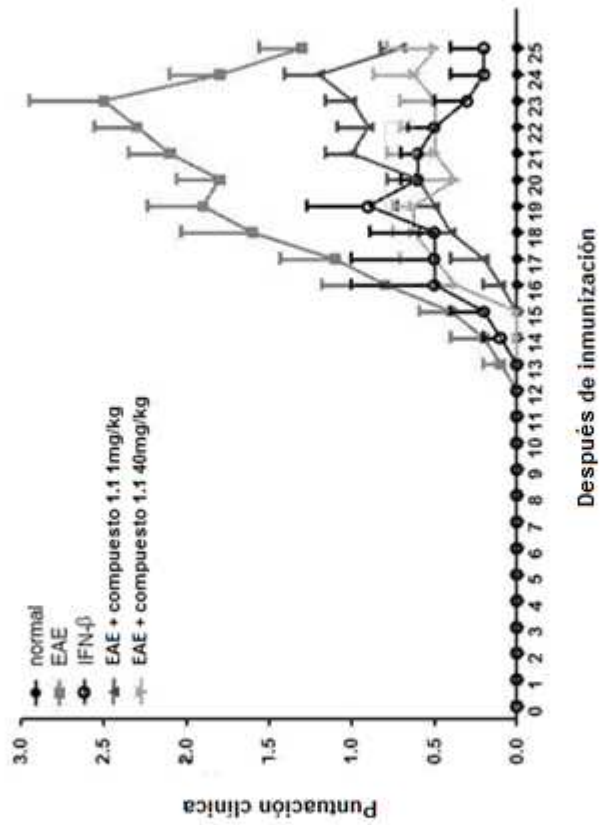
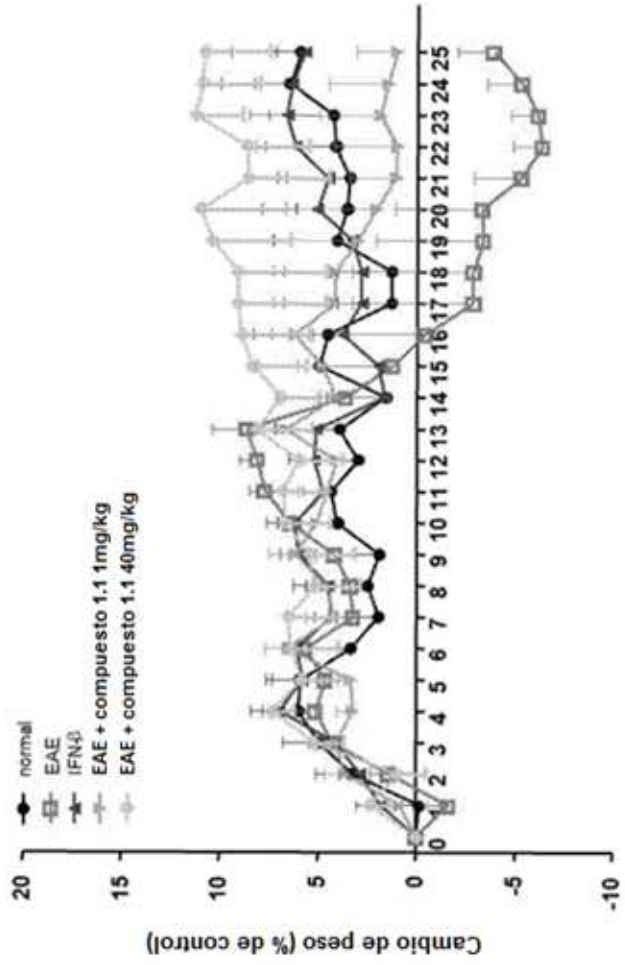


FIG. 28A



Después de inmunización

**FIG. 28B**

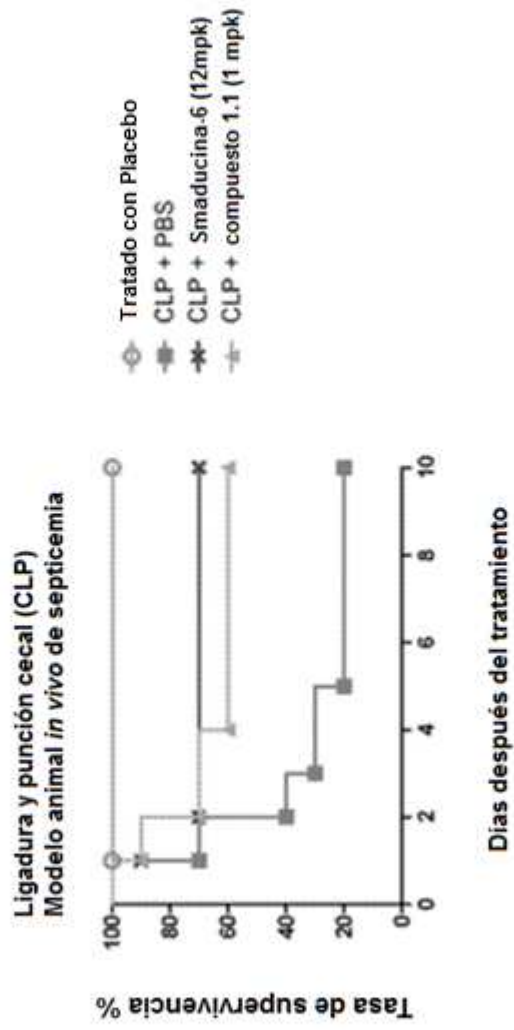


FIG. 29