(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 980 112**

(51) Int. Cl.:

A61P 11/00 (2006.01)
C07D 239/54 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2020 PCT/GB2020/053194**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.06.2021 WO21116709**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2020 E 20828095 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2024 EP 4072675**

(54) Título: **Compuestos y su uso para el tratamiento de la deficiencia en alfa1-antitripsina**

(30) Prioridad:

13.12.2019 GB 201918414

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.09.2024

(73) Titular/es:

CENTESSA PHARMACEUTICALS (UK) LIMITED (100.0%)
3rd Floor 1 Ashley Road
Altrincham, Cheshire WA14 2DT, GB

(72) Inventor/es:

RAMSDEN, NIGEL;
FOX, DAVID JOHN;
HUNTINGTON, JAMES ANDREW y
TOMLINSON, JAMES MICHAEL

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

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

Compuestos y su uso para el tratamiento de la deficiencia en alfa1-antitripsina

La invención se refiere a determinadas benzamidas y a su uso médico.

La α_1-antitripsina (A1AT) es un miembro de la superfamilia de las serpinas que es producida por el hígado y se segrega hacia la sangre. Inhibe una diversidad de serina proteasas, en especial la neutrófilo elastasa. Cuando los niveles sanguíneos de A1AT son bajos, la excesiva actividad neutrófilo elastasa degrada el tejido pulmonar, lo que provoca complicaciones respiratorias, tales como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

El intervalo de referencia de A1AT en sangre es 0,9-2,3 g/l. Unos niveles más bajos que los mencionados son típicos de la deficiencia en α_1-antitripsina (A1AD o DAAT), un trastorno genético causado por mutaciones en el gen SERPINA1, que codifica la A1AT. La mutación Z, la causa más habitual de la DAAT, es la sustitución de glutamato a lisina en la posición 366 de A1AT (UniProtKB - P01009 (A1AT_HUMAN)), que corresponde a la posición 342 en la proteína madura (A1AT Z). La mutación Z afecta al plegamiento de la A1AT, que tiene como consecuencia que sólo una pequeña fracción adquiere el estado nativo/activo. El resto se elimina en forma de proteína plegada incorrectamente o se acumula en el hígado en forma de polímeros estables. Como consecuencia del plegamiento erróneo, los portadores homocigóticos de la mutación Z (ZZ) tienen unos niveles plasmáticos de A1AT que son un 10-15 % del nivel normal, lo que predispone a los portadores a padecer EPOC. La acumulación de polímeros de A1AT Z en las células hepáticas predispone a los portadores a padecer cirrosis, cáncer de hígado y otras patologías hepáticas.

El tratamiento actual para la manifestación pulmonar de la DAAT implica un tratamiento de reposición con concentrados de A1AT preparados a partir del plasma de donantes de sangre. La FDA (Administración de Fármacos y Alimentos) de EE. UU. ha aprobado el uso de cuatro productos de A1AT: Prolastin, Zemaira, Glassia y Aralast. La administración se realiza a través de una infusión intravenosa semanal. Se ha demostrado que el tratamiento de reposición frena la progresión de la EPOC. Las manifestaciones hepáticas de la DAAT (por ejemplo, cirrosis y cáncer) se tratan con esteroides y trasplante de hígado. Los enfoques en la investigación de tratamientos mejorados de las manifestaciones hepáticas incluyen la inhibición de la polimerización de A1AT Z y el aumento de la eliminación de los polímeros a través de la activación de la autofagia. Los enfoques en la investigación de tratamientos mejorados de las manifestaciones pulmonares y hepáticas se dirigen a la mejora del plegamiento y la secreción de A1AT Z.

Elliott *et al.* (Protein Science, 2000, 9, 1274-1281) han descrito una estructura cristalina por rayos X de la A1AT e identificaron cinco cavidades que son dianas potenciales para el diseño fundamentado de fármacos para desarrollar agentes que afectarán a la polimerización de A1AT Z.

Parfrey *et al.* (J. Biol. Chem., 2003, 278, 35, 33060-33066) también definieron una única cavidad que es una diana potencial para el diseño fundamentado de fármacos para desarrollar agentes que afectarán a la polimerización de A1AT Z.

Knaupp *et al.* (J. Mol. Biol., 2010, 396, 375-383) han demostrado que el bis-ANS (4,4'-dianilino-1,1'-binaftil-5,5'-disulfonato) puede unirse a A1AT Z, pero no a la A1AT de tipo salvaje (M), con una estequiometría 1:1 y una K_d de 700 nM.

Chang *et al.* (J. Cell. Mol. Med., 2009, 13, 8B, 2304-2316) han notificado una serie de péptidos, que incluyen Ac-TTAI-NH_2, que inhiben la polimerización de A1AT Z.

Burrows *et al.* (Proc. Nat. Acad. Sci., 2000, 97, 4, 1796-1801) han demostrado que una serie de chaperonas no selectivas, que incluyen el ácido 1796-fenilbutírico, glicerol y óxido de trimetilamina, pueden aumentar los niveles de A1AT Z en sobrenadantes de células y en modelos de ratón.

Bouchecareilh *et al.* (Journal of Biological Chemistry, 2012, 287, 45, 38265-38278) describen el uso de inhibidores de la histona desacetilasa, en concreto SAHA (suberoilanilida del ácido hidroxámico) para aumentar la secreción de A1AT M y Z desde las células.

Berthelier *et al.* (PLOS ONE, 11 de mayo, 2015) demostraron que la S-(4-nitrobencil)-6-tioguanosina puede prevenir la polimerización de A1AT Z *in vitro*.

Mallya *et al.* (J. Med. Chem., 2007, 50, 22, 5357-5363) describen una serie de fenoles, tales como N-(4-hidroxi-3,5-dimetilfenil)-2,5-dimetiltiofen-3-sulfonamida, que pueden bloquear la polimerización de A1AT Z *in vitro*.

Huntington (XIIIth International Symposium on Proteinases, Inhibitors and Biological Control, 23 de septiembre de 2012, y 7th International Symposium on Serpin Biology, Structure and Function, 1 de abril de 2014) analiza una cavidad a partir de una estructura cristalina de rayos X de A1AT Z, que es una diana potencial para el diseño

fundamentado de fármacos para desarrollar agentes que afectarán a la polimerización de A1AT Z.

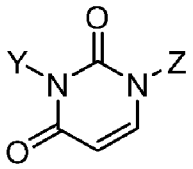
El documento US8 436 013B2 divulga una amplia diversidad de estructuras capaces de aumentar la secreción de A1AT Z desde las células en el intervalo micromolar.

El documento WO2019/243841A1 divulga compuestos de oxoindolin-4-carboxamida como moduladores de la alfa-1-antitripsina y su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con la alfa-1-antitripsina.

El documento WO2020/081257A1 divulga compuestos de ácido pirroloindazolilpropanoico como moduladores de la alfa-1-antitripsina.

El documento US2020/0361939A1 divulga otros compuestos de ácido pirroloindazolilpropanoico como moduladores de la alfa-1-antitripsina.

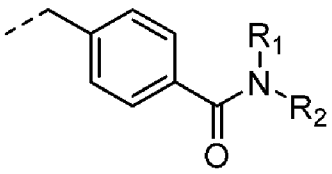
De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de dioxodihidropirimidinilo de fórmula (1):



(1)

en la que:

- Uno de Y o Z es H y el otro de Y o Z es:



- R_1 y R_2 son independientemente hidrógeno o grupos alquilo C1-C6 opcionalmente sustituidos, y
- R_1 y R_2 pueden fusionarse para formar un heterociclo, en donde el compuesto de fórmula (1) se selecciona de:
- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida o
- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida o
- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropilbenzamida o
- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-(4-fluorobencil)benzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-etil-N-metilbenzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropil-N-metilbenzamida o
- N-bencil-4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)benzamida.

Los expertos en la técnica también entenderán que los compuestos de la invención pueden describirse como uracilos.

Los inventores han descubierto que los compuestos de la invención sorprendentemente han demostrado ser muy eficaces para aumentar los niveles de A1AT Z correctamente plegada y, por tanto, activa, al mismo tiempo que no

afectan a la secreción de la A1AT(M) de tipo salvaje ni de la variante Siiyama de la A1AT.

El compuesto de la invención puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o en una forma cristalina.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal monoorgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable del compuesto de la invención. Esta puede incluir sales de adición de ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfato, fosfato, difosfato y nitrato, o de ácidos orgánicos, tales como sales acetato, maleato, fumarato, tartrato, succinato, citrato, lactato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, palmoato y estearato. Algunos ejemplos de sales también incluyen sales oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, bisulfato, fosfato ácido, isonicotinato, salicilato, citrato ácido, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, gentisinato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, etanosulfonato y bencenosulfonato. Para obtener otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptable, puede consultarse Gould (1986, Int. J. Pharm., 33: 201-217).

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención como se describe en el presente documento y un excipiente o vehículo farmacéutica o terapéuticamente aceptable.

La expresión "excipiente o vehículo farmacéutica o terapéuticamente aceptable" se refiere a una carga sólida o líquida, un diluyente o una sustancia encapsulante que no interfiere con la eficacia o la actividad biológica de los principios activos y que no es tóxico para el receptor, que pueden ser seres humanos o animales, al que se administra. En función de la vía de administración concreta, puede utilizarse una diversidad de vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como los conocidos en la técnica. Algunos ejemplos no limitantes incluyen azúcares, almidones, celulosa y sus derivados, malta, gelatina, talco, sulfato de calcio, aceites vegetales, aceites sintéticos, polioles, ácido algínico, soluciones tamponadas con fosfato, emulgentes, solución salina isotónica y agua apirógena.

Se contemplan todos los modos adecuados de administración de acuerdo con la invención. Por ejemplo, la administración del medicamento puede ser por vía oral, subcutánea, intravenosa directa, infusión intravenosa lenta, infusión intravenosa continua, analgesia controlada por el paciente intravenosa o epidural (ACPP y ACPPE), intramuscular, intratecal, epidural, intracistemal, intraperitoneal, transdérmica, tópica, transmucosa, bucal, sublingual, transmucosa, inhalación, intranasal, intraauricular, intranasal, rectal u ocular. El medicamento puede formularse en formas farmacéuticas unitarias discretas y puede prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica farmacéutica.

Se contemplan todas las formas farmacéuticas adecuadas. La administración del medicamento puede realizarse, por ejemplo, en forma de soluciones y suspensiones orales, comprimidos, cápsulas, pastillas para chupar, comprimidos efervescentes, películas transmucosas, supositorios, productos bucales, productos mucorretentores orales, cremas tópicas, ungüentos, geles, películas y parches, parches transdérmicos, formulaciones resistentes al consumo inadecuado de medicamentos y disuasorias del consumo inadecuado de medicamentos, soluciones, suspensiones e inyectables de liberación prolongada estériles para un uso parenteral y similares, administrados en forma de liberación inmediata, liberación prolongada, liberación retardada, liberación controlada, liberación sostenida y similares.

Otro aspecto de la invención es el uso del compuesto de la invención como se define en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno.

Otro aspecto de la invención es el compuesto de la invención para su uso como inductor de la secreción de A1AT Z.

También se proporciona el compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno.

En el presente documento se describe, pero no se reivindica, un procedimiento de tratamiento de una enfermedad o un trastorno, que comprende la etapa de administrar el compuesto o la composición farmacéutica de la invención como se define en el presente documento a un paciente que lo necesite.

También se describe, pero no se reivindica, el uso de compuesto de la invención como inductor de la secreción de A1AT Z. El uso puede ser en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno. Además o como alternativa, el uso puede ser *in vitro*, por ejemplo, en un ensayo *in vitro*.

Una enfermedad o un trastorno adecuado para el tratamiento de acuerdo con los aspectos importantes de la invención es aquel que se caracteriza por unos niveles plasmáticos bajos de A1AT, por ejemplo, DAAT.

El uso de un intervalo numérico en la presente descripción pretende incluir de modo inequívoco en el alcance de la invención todos los números enteros individuales dentro del intervalo y todas las combinaciones de números entre el límite superior e inferior dentro del alcance más amplio del intervalo dado.

Tal como se emplea en el presente documento, el término "comprende" significa comprende y consiste en. En consecuencia, cuando la invención se refiere a una "composición farmacéutica que comprende como principio activo" un compuesto, esta terminología pretende incluir composiciones en las que pueden estar presentes otros principios activos y también composiciones que consisten únicamente en un principio activo como se define.

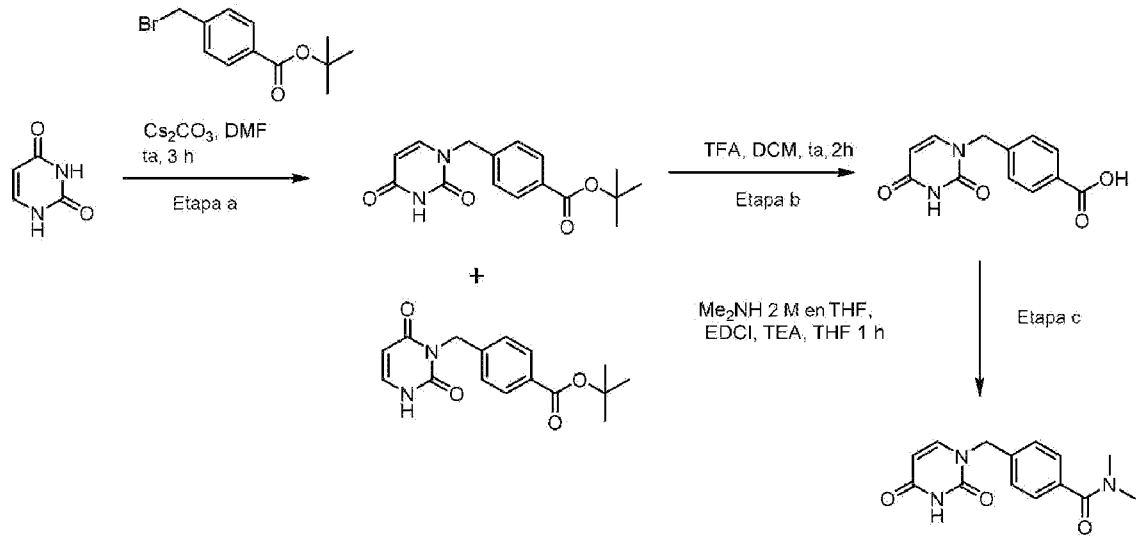
A menos que se definan de otro modo, todos los términos y las expresiones técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que suelen entender los especialistas en el campo al que pertenece la presente invención.

A continuación, se describirán ejemplos no limitantes concretos de la presente invención.

Parte experimental

Ejemplo 1: 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida

Se preparó la 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida utilizando los siguientes procedimientos de síntesis secuencial.



Etapa a - Síntesis de 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoato de terc-butilo

Se agitaron uracilo (5 g) y carbonato de cesio (50,85 g) en dimetilformamida (50 ml) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se añadió 4-(bromometil)benzoato de terc-butilo (14,11 g) y la reacción se agitó durante 3 horas. La reacción se diluyó con agua y el precipitado amarillo resultante se recogió por filtración. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano (del 30 % al 50 %) para obtener 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoato de terc-butilo (3,5 g, el producto más polar) y 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoato de terc-butilo (420 mg, el producto menos polar).

Etapa b - Síntesis del ácido 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoico

Se disolvió 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoato de terc-butilo (3 g) en diclorometano (20 ml) y se añadió lentamente ácido trifluoroacético (30 ml). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La reacción se concentró a presión reducida y el aceite resultante se agitó con éter dietílico (100 ml) durante 20 minutos a temperatura ambiente. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico (2 x 30 ml) y se secó al vacío para obtener ácido 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoico.

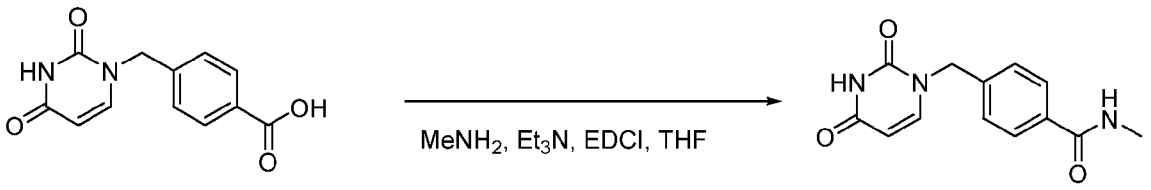
Etapa c - Síntesis de 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida

Se agitaron ácido 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoico (64 mg, 0,27 mmol) y clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (86 mg, 0,54 mmol) en tetrahidrofurano (1 ml) durante 10 minutos a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A continuación, se dejó que la reacción se calentase hasta la temperatura ambiente. Se añadió trietilamina (0,11 ml, 81 mmol) y dimetilamina (disolución 2 M en tetrahidrofurano, 69 mmol) y la reacción se agitó durante 2 horas. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se cargó en una columna de sílice, eluyendo con metanol al 4 % en diclorometano. Las fracciones que contenían el producto se concentraron para obtener 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida.

m/z: 273,10

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 11,35, (1H, s), 7,78 (1H, d), 7,38 (2H, d), 7,32 (2H, d), 5,60 (1H, d), 4,90 (2H, s), 2,96-2,86 (6H, a).

Ejemplo 2: 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida

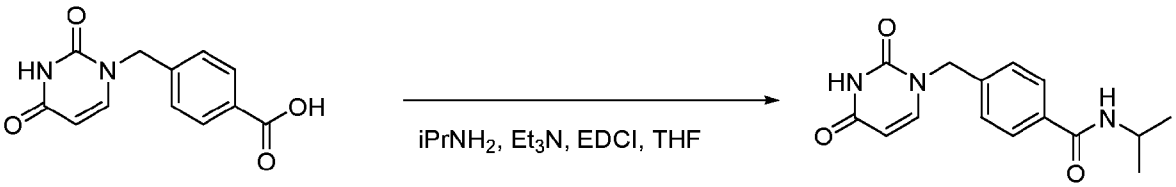


Se preparó la 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida de una manera similar utilizando metilamina en lugar de dimetilamina en la etapa c.

m/z (M+Na): 282,08 (calc. 282,08)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 11,34 (1H, s), 8,44-8,39 (1H, m), 7,84-7,74 (3H, m), 7,39-7,32 (2H, m), 5,61 (1H, dd), 4,91 (2H, s), 2,77 (3H, d).

Ejemplo 3: 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropilbenzamida

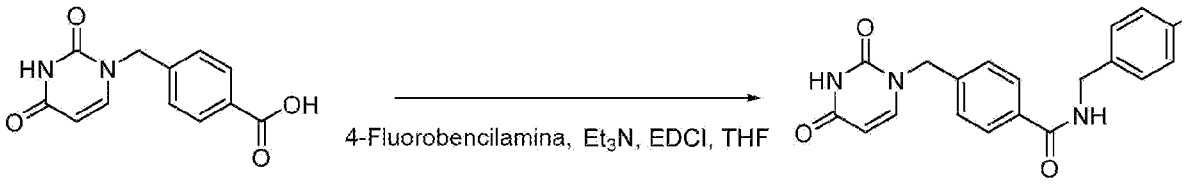


Se preparó la 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropilbenzamida de una manera similar utilizando isopropilamina en lugar de dimetilamina en la etapa c.

m/z (M+Na): 310,12 (calc. 310,12)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 11,34 (1H, s), 8,18 (1H, d), 7,84-7,79 (2H, m), 7,77 (1H, d), 7,39-7,30 (2H, m), 5,61 (1H, dd), 4,91 (2H, s), 4,08 (1H, sept.), 1,15 (6H, d).

Ejemplo 4: 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-(4-fluorobencil)benzamida



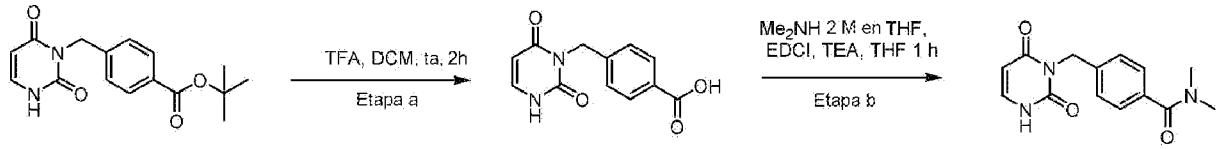
Se preparó la 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-(4-fluorobencil)benzamida de una manera similar utilizando 4-fluorobencilamina en lugar de dimetilamina en la etapa c.

m/z (M+Na): 376,11 (calc. 376,11)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 11,27 (1H, s), 9,04 (1H, t), 7,91-7,82 (2H, m), 7,77 (1H, d), 7,42-7,30 (4H, m), 7,18-7,10 (2H, m), 5,61 (1H, s), 4,92 (2H, s), 4,45 (2H, d).

Ejemplo 5: 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida

Se preparó la 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida utilizando los siguientes procedimientos de síntesis secuencial.



Etapa a - Síntesis del ácido 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoico

Se disolvió 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoato de *terc*-butilo (2 g) en diclorometano (10 ml) y se añadió lentamente ácido trifluoroacético (15 ml). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La reacción se concentró a presión reducida y el aceite resultante se agitó con éter dietílico (50 ml) durante 20 minutos a temperatura ambiente. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico (2 x 15 ml) y se secó al vacío para obtener ácido 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoico.

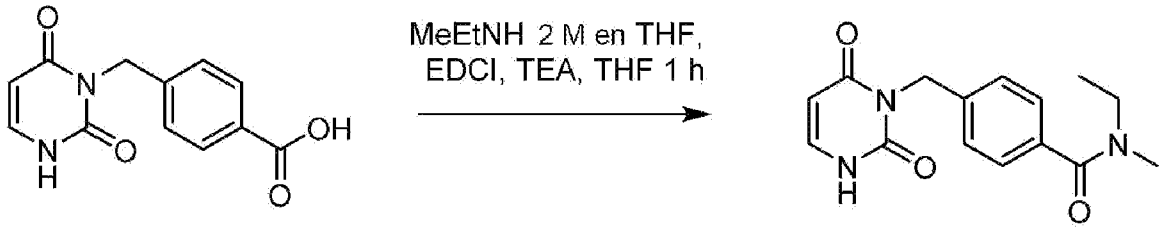
Etapa b - Síntesis de 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida

Se agitaron ácido 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)benzoico (32 mg) y clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil))-N'-etilcarbodiimida (43 mg) en tetrahidrofurano (1 ml) durante 10 minutos a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A continuación, se dejó que la reacción se calentase hasta la temperatura ambiente. Se añadió trietilamina (0,06 ml) y dimetilamina (disolución 2 M en tetrahidrofurano) y la reacción se agitó durante 2 horas. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se cargó en una columna de sílice, eluyendo con metanol al 4 % en diclorometano. Las fracciones que contenían el producto se concentraron para obtener 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida.

m/z: 273,51 (calc. 273,11)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 7,48 (1H, d), 7,32 (2H, d), 7,27 (2H, d), 5,61 (1H, d), 4,95 (2H, s), 2,95-2,85 (6H, a).

Ejemplo 6: 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-etil-N-metilbenzamida

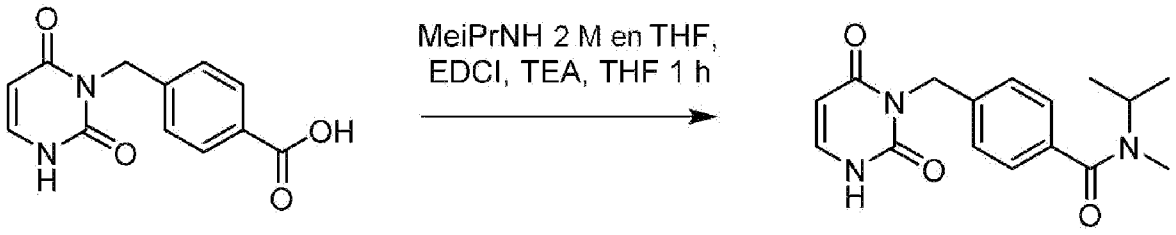


Se preparó la 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-etil-N-metilbenzamida de una manera similar utilizando metiletilamina en lugar de dimetilamina en la etapa b.

m/z: 287,18 (calc. 287,13)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 7,49 (1H, d), 7,28 (4H, s a), 5,64 (1H, d), 4,95 (2H, d), 3,4-3,2 (2H, m), 2,95-2,85 (3H, a), 1,1-1,0 (3H, a),

Ejemplo 7: 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropil-N-metilbenzamida



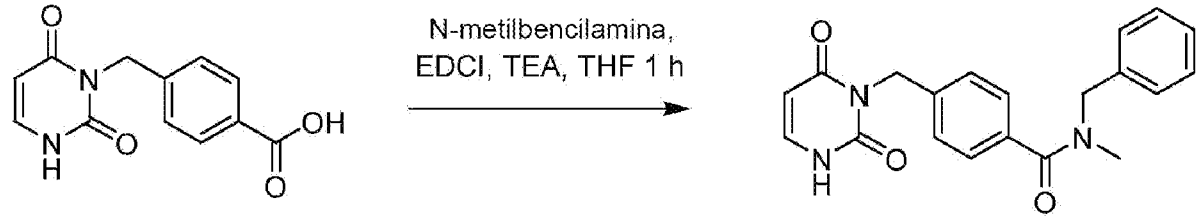
Se preparó la 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropil-N-metilbenzamida de una manera similar utilizando metilisopropilamina en lugar de dimetilamina en la etapa b.

m/z: 301,18 (calc. 301,14)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 11,20 (1H, s), 7,49 (1H, d), 7,28 (4H, s a), 5,65 (1H, d), 4,95 (2H, d),

3,78 (2H, m a), 2,78-2,60 (3H, a), 1,2-1,0 (6H, a).

Ejemplo 8: **N-bencil-4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida**

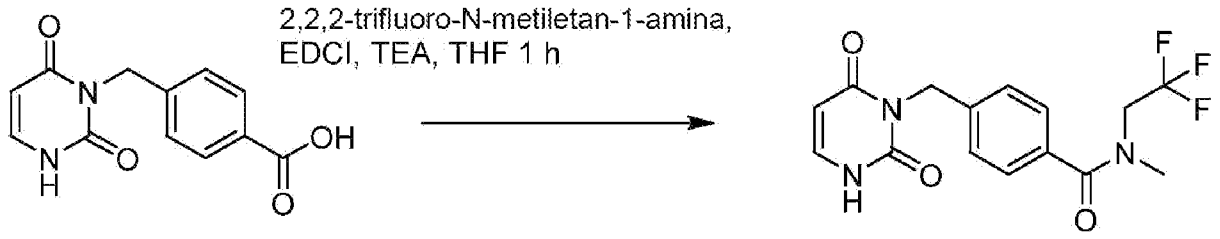


Se preparó la N-bencil-4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida de una manera similar utilizando N-metilbencilamina en lugar de dimetilamina en la etapa b.

m/z: 349,36 (calc. 349,14)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 11,20 (1H, s), 7,48 (1H, d), 7,35-7,29 (8H, m a), 7,15 (1H, m a), 5,62 (1H, a), 4,95 (2H, a), 4,64 y 4,44 (2H, a), 2,84-2,79 (3H, a).

Ejemplo 9: **4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)benzamida**



Se preparó la 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)benzamida de una manera similar utilizando 2,2,2-trifluoro-N-metiletan-1-amina en lugar de dimetilamina en la etapa b.

m/z: 341,10 (calc. 341,10)

RMN de ^{1}H (400 MHz, d6 DMSO) δ 11,25 (1H, s), 7,49 (1H, d), 7,36-7,31 (4H, m a), 5,65 (1H, a), 4,96 (2H, s), 4,34 y 4,11 (2H, a), 3,00 (3H, a).

Ejemplo 10: **Actividad de los compuestos de la invención en un ensayo de secreción celular de A1AT usando células HEK-Z**

Procedimientos

Se cultivaron células HEK-Z, una línea de células renales embrionarias humanas transfectadas de forma estable con el gen A1AT Z humano, en placas de 96 pocillos (3,0 x 10^5 células/µl con 200 ml de medio/pocillo) durante la noche a 37 °C en una atmósfera humidificada que contenía 5 % de CO_2. Tras la incubación, las células se lavaron con 200 µl de medio sin suero tres veces y el medio se reemplazó por tratamientos por cuadruplicado empleando medio sin suero que contenía vehículo, ácido suberanilohidroxámico (SAHA) 10 µM o un compuesto de la invención (a concentraciones de 10, 33, 100 y 333 nM) durante 48 h en una estufa de incubación a 37 °C en un volumen final de 200 µl. Al final de la etapa de incubación, los sobrenadantes se retiraron de los pocillos, se centrifugaron a 1000 x g a 4 °C durante 10 min y se ensayaron para determinar los niveles de A1AT humana mediante ELISA (equipo de ELISA dual de serpina humana A1/α_1-antitripsina, R&D Systems, DY1268) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Brevemente, una placa de 96 pocillos se recubrió con anticuerpo de captura de A1AT humana durante la noche a temperatura ambiente (dilución 1:180 a partir de la disolución madre, 100 µl de volumen final/pocillo). A continuación, el anticuerpo de captura se retiró y los pocillos se lavaron tres veces con 300 µl de tampón de lavado (Tween 20 al 0,05 % en PBS) y, a continuación, se incubaron con 200 µl de diluyente de reactivo (Tween 20 al 25 % en PBS) en cada pocillo durante 1 h a temperatura ambiente. A continuación, se añadieron las muestras diluidas, los patrones (A1AT 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000 y 8000 pg/ml) o los blancos a cada pocillo por duplicado y las placas se cubrieron con un sellador de placas y se dejaron a temperatura ambiente durante 2 h. Al final de la etapa de incubación de las muestras, éstas se retiraron y todos los pocillos se lavaron como se ha indicado previamente y se añadieron 100 µl de anticuerpo de detección (dilución 1:180 a partir de la disolución madre) a cada pocillo y se incubó durante 2 h más a temperatura ambiente. Tras la incubación con el anticuerpo de detección, se retiró el

sobrenadante y los pocillos se lavaron como se ha indicado previamente y se añadieron 100 µl de disolución de estreptavidina-HRP (dilución 1:200 a partir de la disolución madre) a cada pocillo durante 20 min en la oscuridad. Después de esto, se añadieron 50 µl de la disolución de interrupción (H_2SO_4 2 M) y se leyó la densidad óptica (DO) de cada pocillo a 450 nm, restándose 570 nm de blanco de cada pocillo utilizando un lector de microplacas. Se construyó una curva logística de 4 parámetros utilizando GraphPad Prism 7 y se determinaron las concentraciones de A1AT en cada muestra por interpolación a partir de una curva patrón y multiplicando por el factor de dilución adecuado.

Resultados

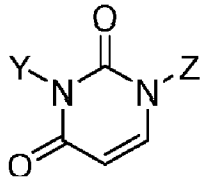
Los datos en la tabla 1 demuestran que los compuestos de los ejemplos 1 a 3 aumentan la secreción de A1AT Z desde las células HEK-Z a 33 nM.

Tabla 1

Ejemplo	Mediana del % de incremento de A1AT frente al vehículo a 300 nM
1	130
2	175
3	190
4	170
5	140
6	190
7	170
8	175
9	180

REIVINDICACIONES

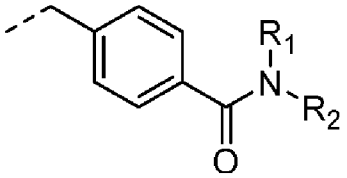
1. Un compuesto de fórmula (1):



(1)

en la que:

- Uno de Y o Z es H y el otro de Y o Z es:



- R^1 y R^2 son independientemente hidrógeno o grupos alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituidos, y
- R^1 y R^2 pueden fusionarse para formar un heterociclo, en donde el compuesto de fórmula (1) se selecciona de:

- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida o
- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida o
- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropilbenzamida o
- 4-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-(4-fluorobencil)benzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N,N-dimetilbenzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-etil-N-metilbenzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-isopropil-N-metilbenzamida o
- N-bencil-4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metilbenzamida o
- 4-((2,6-dioxo-3,6-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)benzamida.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o en una forma cristalina.

3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 y un excipiente o vehículo farmacéutica o terapéuticamente aceptable.

4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno.

5. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la enfermedad o el trastorno es la deficiencia en α1-antitripsina (DAAT).