



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 315 511**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/6615 (2006.01) **A61K 31/16** (2006.01)
A61K 31/17 (2006.01) **A61P 37/04** (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01) **A61P 37/08** (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) **A61P 17/00** (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) **A61P 19/06** (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) **A61P 29/00** (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **03740968 .7**

(96) Fecha de presentación : **28.05.2003**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1511499**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **09.03.2005**

(54) Título: **Compuestos inmunomoduladores y su método de uso.**

(30) Prioridad: **28.05.2002 US 157791**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2009

(73) Titular/es: **Eisai R&D Management Co., Ltd.**
6-10, Koishikawa 4-chome
Bunkyo-ku, Tokyo 112-8088, JP

(72) Inventor/es: **Hawkins, Lynn, D. y**
Ishizaka, Sally, T.

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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 inmunomoduladores y su método de uso.

5 **Fundamento de la invención**

El sistema inmunitario proporciona defensas vitales contra la invasión de patógenos tales como bacterias, virus, parásitos, helmintos y otros invasores extraños, así como también proporciona protección contra la proliferación de células neoplásicas. La eliminación de patógenos y de células neoplásicas requiere la estimulación del sistema inmunitario. Sin embargo, en ciertos casos, las respuestas inmunitarias y la estimulación del sistema inmunitario pueden ocasionar o contribuir también a enfermedades y patologías tales como enfermedades autoinmunitarias, inflamación, alergia, anafilaxis y choque séptico.

La generación de tratamientos eficaces para estas enfermedades y estas patologías ha resultado difícil de encontrar. Por ejemplo, inmunosupresores de amplio espectro tales como ciclosporina A y esteroides pueden ser usados para tratar enfermedades autoinmunitarias, alergias y otras patologías, pero estos tratamientos pueden presentar efectos secundarios graves. De modo semejante, los tratamientos actuales de procesos inflamatorios tales como trastorno e hiperfunción adrenocortical crónicos, alergias, artritis reumatoide, lupus, enfermedad inflamatoria del intestino, neumonía, asma bronquial, trastornos hematológicos, dermatitis y eccema, pueden presentar efectos secundarios indeseados de estos agentes, incluyendo hipertensión, aterosclerosis, diabetes, hiperglucemia, adelgazamiento óseo y desequilibrio electrolítico.

Los tratamientos mejorados de enfermedades y patologías asociadas con el sistema inmunitario y respuestas inmunitarias requieren la capacidad de modular y reconducir ciertas respuestas inmunitarias para suprimir las respuestas perjudiciales sin comprometer la capacidad del individuo para eliminar infecciones.

Los documentos WO 00/44758 y WO 02/09752 describen compuestos que actúan como adyuvantes inmunológicos cuando son administrados conjuntos con antígenos tales como vacunas para enfermedades bacterianas y virales.

Hawkins *et al.*, J. Pharm. Exper. Therap., 300 (2), 2002, 655-661, describen una serie de compuestos que contienen lípidos unidos a una estructura fundamental acíclica que contiene fosfato, que se mostró que ponían de manifiesto actividad de adyuvante *in vivo*.

El documento WO 01/90129 describe el tratamiento de enfermedades infecciosas, enfermedades autoinmunitarias y alergias mediante el empleo de compuestos a base de mono- y disacáridos para estimular selectivamente la respuesta inmunitaria de animales y plantas.

Sumario de la invención

La invención es tal como se define en las reivindicaciones que se acompañan. En un aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I para preparar un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre el grupo que consiste en alergia, asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica, eccema, urticaria y alergias alimentarias, o para la supresión de una respuesta inmunitaria asociada con anafilaxis.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto inmunoestimulador de la fórmula I como el agente activo para preparar un medicamento para desensibilizar a un sujeto contra la ocurrencia de una reacción alérgica en respuesta a contacto con un alérgeno o antígeno particular.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I como el ingrediente activo para preparar un medicamento para prevenir, mejorar o retardar el comienzo de asma.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una gráfica que muestra los resultados de un ensayo *in vitro* para inducir la liberación de la citoquina TNF-alfa por los compuestos 100, 184 ó 186 de la invención.

La Figura 2 es una gráfica que muestra los resultados de un ensayo *in vitro* para inducir la liberación de IL-10 e IL-12 por los compuestos ER803022, ER803702, ER804053, ER804057, ER804058 y ER804059.

La Figura 3 es una gráfica que muestra la estimulación de la expresión de fosfatasa alcalina a partir de una construcción informadora inducible con el promotor TNF (TNF-PLAP) en células THP-1 por los compuestos 106 y 126, en ausencia y presencia de suero al 10%.

La Figura 4 es una gráfica que muestra la estimulación de la liberación de IL-10 a partir de esplenocitos normales del ratón, por los compuestos 104, 106, 124, 160 y 162 de la invención.

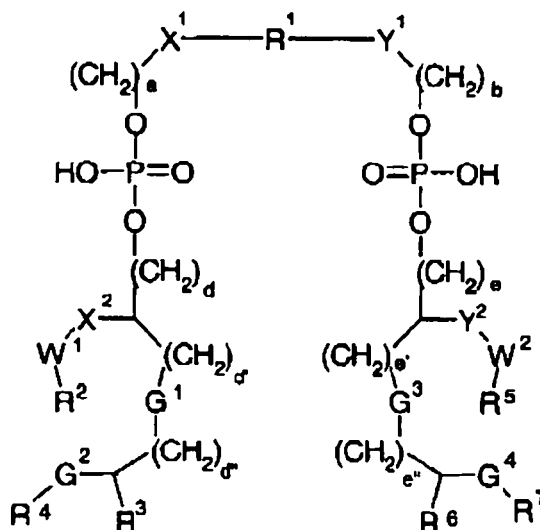
La Figura 5 es una gráfica que muestra la estimulación de la liberación de interferón-gamma a partir de esplenocitos normales del ratón, por los compuestos 104, 106, 124, 126, 160 y 162 de la invención.

La Figura 6 es una gráfica que muestra la estimulación de la liberación de TNF-alfa en respuesta a los ligandos TLR2, TLR4 y TLR9, por células de macrófago del ratón sin tratar y células de macrófago del ratón tratadas previamente con el compuesto inmunomodulador ER803022.

5 Descripción detallada de las realizaciones preferidas

La presente invención está dirigida, en parte, al uso de compuestos inmunomoduladores de la fórmula I

I:



en la que:

R¹ esta seleccionado entre el grupo que consiste en:

- (a) C(O);
- (b) C(O)-alquilo(C₁₋₁₄)-C(O), en donde dicho alquilo C₁₋₁₄ está sustituido opcionalmente con hidroxilo, alcoxi C₁₋₅, alquilen(C₁₋₅)dioxo, alquil(C₁₋₅)amino o alquil(C₁₋₅)arilo, en donde dicho resto arilo de dicho alquil(C₁₋₅)arilo está sustituido opcionalmente con alcoxi C₁₋₅, alquil(C₁₋₅)amino, alcoxi(C₁₋₅)amino, alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)C(O)OH, -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)-C(O)-alquilo C₁₋₅;
- (c) C₂ a C₁₅ es alquilo de cadena lineal o ramificada, sustituido opcionalmente con hidroxilo o alcoxi; y
- (d) -C(O)-arileno(C₆₋₁₂)-C(O)- en donde dicho arileno está sustituido opcionalmente con hidroxilo, halógeno, nitro o amino;

a y b son, independientemente, 0, 1, 2, 3 ó 4;

d, d', d'', e, e' y e'' son, independientemente, un número entero desde 1 a 4;

X¹, X², Y¹ e Y² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en null, oxígeno, NH y N(C(O)alquilo(C₁₋₄))₂;

W¹ y W² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en carbonilo, metileno, sulfona y sulfóxido;

R² y R⁵ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en

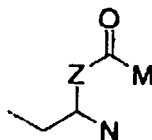
- (a) alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;
- (b) alqueno o dialqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

ES 2 315 511 T3

(c) alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} , que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

(d) -NH-alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} , en donde dicho grupo alquilo está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi; y

(e)



en donde Z está seleccionado entre el grupo que consiste en O y NH, y M y N están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo, alquienilo, alcoxi, aciloxi, alquilamino y acilamino, de cadena lineal o ramificada, de C_2 a C_{20} ;

R^3 y R^6 están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo o alquienilo, de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} , sustituido opcionalmente con oxo o fluoro;

R^4 y R^7 están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en C(O)-alquilo o alquienilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} ; alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada de C_2 a C_{20} ; alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada de C_2 a C_{20} ; alquienilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} ; en los que dichos grupos alquilo, alquienilo o alcoxi pueden estar sustituidos, independiente y opcionalmente, con hidroxilo, fluoro o alcoxi de C_1 a C_5 ;

G^1 , G^2 , G^3 y G^4 están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en oxígeno, metileno, amino, tiol, -NHC(O)-, y -N(C(O)alquilo de C_{1-4})-; o

G^2R^4 ó G^4R^7 pueden ser, juntos, un átomo de hidrógeno o hidroxilo;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

En compuestos de la invención preferidos, uno o más de lo siguiente está presente: cada uno de a y b es 2; cada uno de X^1 e Y^1 es NH; R^1 es C(O) ó C(O)-alquil(C_{1-14})-C(O); cada uno de d' y e' es 1; cada uno de d'' y e'' es 1; o cada uno de d' y e' son 2.

En otras realizaciones preferidas, R^1 es un grupo C(O)(alquil(C_{1-14}))-C(O), en el que dicho alquil(C_{1-14}) está sustituido, por ejemplo, con un grupo alcoxi de C_{1-5} ;

En la realización más preferida, la invención está dirigida a los compuestos ER 803022, ER 803058, ER 803732, ER 804053, ER 804057, ER 804058, ER 804059, ER 804442, ER 804680 y ER 804764. y a composiciones que contienen estos compuestos.

Definiciones

Carbonilo, tal como se usa aquí, es un resto (C=O).

Dicarbonilo, tal como se usa aquí, es un resto con la estructura (C=O)-alquil-(C=O) ó (C=O)-aril-(C=O), que está unido a una molécula a través de los átomos de carbono de los dos restos de carbonilo terminales.

Oxo, tal como se usa aquí, es un grupo =O.

Ester alquílico, tal como se usa aquí, es un resto con la estructura O-(C=O)-alquilo, que está unido a una molécula a través del oxígeno del grupo éster no de doble enlace.

Ester alquénílico, tal como se usa aquí, es un resto con la estructura O-(C=O)-cadena carbonada, donde la cadena carbonada contiene un doble enlace carbono-carbono, que está unido a una molécula a través del oxígeno del grupo éster no de doble enlace.

El término "alquilenilo" significa un grupo hidrocarbonado alquilo bivalente de cadena lineal o de cadena ramificada.

El término "alquénilenilo" significa un grupo hidrocarbonado bivalente, de cadena lineal o ramificada, que tiene un único doble enlace carbono-carbono.

El término “dialquenileno” significa un grupo hidrocarbonado bivalente, insaturado, de cadena lineal o de cadena ramificada, que tiene dos dobles enlaces carbono-carbono.

El término arileno se refiere a un grupo aromático bivalente.

La abreviatura “Boc”, tal como se usa aquí, significa t-butiloxicarbonilo.

Tal como se usa aquí con referencia a compuestos y composiciones de la invención, la expresión “tipo 1” se refiere a aquellos compuestos de la invención que corresponden a la fórmula I anterior, en que los valores de a y b son los mismos; los valores de d y e son los mismos; los valores de d' y e' son los mismos; los valores de d'' y e'' son los mismos; X¹ e Y¹ son los mismos; X² e Y² son los mismos; W¹ y W² son los mismos; R² y R⁵ son los mismos; G¹ y G² son los mismos; R³ y R⁶ son los mismos, G² y G⁴ son los mismos; y R⁴ y R⁷ son los mismos. “Tipo 2”, tal como se usa aquí, se refiere a compuestos o composiciones que corresponden a la fórmula I en la que se aplica uno o más de lo siguiente: los valores de a y b son diferentes, los valores de d y e son los mismos, los valores de d' y e' son diferentes; los valores de d'' y e'' son los mismos; X¹ e Y¹ son diferentes; X² e Y² son diferentes; W¹ y W² son diferentes; G¹ y G³ son diferentes; R³ y R⁶ son diferentes; G² y G⁴ son diferentes; o R⁴ y R⁷ son diferentes.

Métodos de modulación de respuestas inmunitarias

La presente invención se refiere a la modulación de respuestas inmunitarias mediante la administración de compuestos inmunomoduladores que atraen citoquinas y activan células inmunitarias. En particular, la presente invención está dirigida hacia el uso de compuestos inmunomoduladores para la fabricación de medicamentos que estimulan respuestas inmunitarias dirigidas contra organismos patógenos, o para suprimir respuestas inmunitarias asociadas con alergia y anafilaxis, según las reivindicaciones.

Tal como se usa aquí “compuestos inmunomoduladores” describe compuestos que, cuando se administran a un sujeto, estimulan la producción de citoquinas y provocan respuestas particulares por células inmunitarias. Es sabido que la estimulación de citoquinas potencia la actividad de algunas células inmunitarias y suprimen la actividad de otras células inmunitarias.

Los compuestos inmunomoduladores usados en la invención, son ligandos para el receptor TLR4. El TLR4 es un miembro de la familia de receptores (TLR), receptores semejantes a ToII. En el hombre, la familia TLR comprende diez receptores conocidos, designados TLR1-10.

Los receptores TLR están asociados con el reconocimiento innato inmunitario de organismos patógenos, y los ligandos de TLR conocidos están asociados con patógenos o con daño de tejidos. Por ejemplo, otros ligandos del TLR4 conocidos incluyen endotoxina bacteriana (conocida también como lipopolisacárido, o LPS), lipoproteínas parásitas, proteína 70 humana del choque térmico, y restos de células necróticas humanas. Ligandos para otros TLRs conocidos están asociados también con patógenos y daño de tejidos, e incluyen peptidoglucano que es reconocido por el TLR2, flagelina, reconocida por el TLR5, y secuencias de DNA de CpG bacteriana sin metilar, que son reconocidas por el TLR9.

El reconocimiento de ligandos por el TLR4 da como resultado la secreción de citoquinas y la activación de diversos caminos y comportamientos de células inmunitarias. Los ligandos de TLR4 atraen, típicamente, un conjunto de citoquinas que incluye IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, y TNF α . Muchas de las citoquinas producidas por los ligandos de TLR4 poseen efectos inmunomoduladores o inmunoprotectores conocidos. Al menos dos de estas citoquinas, la IL-10 y la IL-12, desempeñan un papel importante en la regulación de las respuestas inflamatorias. Por ejemplo, la IL-10 posee propiedades antiinflamatorias y está asociada con poblaciones de células T que regulan en descenso reacciones inflamatorias. La IL-10 puede estar implicada también en la regulación en descenso de respuestas mediadas por el subconjunto Th1 de células T cooperadoras, que están asociadas con muchas formas de enfermedades inflamatorias tales como la artritis reumatoide y la enfermedad de Crohn. Por tanto, los ligandos de TLR4 pueden ser útiles para modular respuestas mediadas por las células Th1. Como otro ejemplo, la IL-12 está asociada con funciones afines a las células Th1, implicadas en la supresión de ciertos aspectos de enfermedades alérgicas, incluyendo la síntesis de IgE de células B, que cursan por medio del subconjunto Th2 de células T cooperadoras. Así pues, los agonistas de TLR4 y compuestos afines pueden ser útiles para regular en descenso las respuestas de Th2 y resolver estados dependientes de IL-4 u otras citoquinas asociadas con células Th2.

Como se describe con más detalle en los Ejemplos que se proporcionan más adelante, los compuestos inmunomoduladores usados en la invención pueden atraer la producción de citoquinas, con inclusión de las IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, e IL-12, el interferón- α , el interferón- γ , y GM-CSF.

Por consiguiente, la administración de un compuesto de la fórmula I puede inducir o estimular una respuesta inmunitaria en un animal. Tal como se usa en esta memoria, inducir o estimular una respuesta inmunitaria significa estimular la producción de citoquinas, estimular la proliferación de células inmunes, estimular la activación de células inmunitarias, o estimular la actividad lítica de células inmunitarias. Son ejemplos de respuestas inmunitarias estimuladas por la invención, la secreción de citoquinas, la activación de células NK, la proliferación de células B, células T, macrófagos, monocitos y otras células inmunitarias, y otras respuestas inmunitarias. Estas respuestas pueden potenciar, a su vez, o regular a la baja otras funciones inmunitarias.

La administración de un compuesto inmunomodulador de la fórmula I puede regular al alza una respuesta inmunitaria en un sujeto. Tal como se usa en esta memoria, la regulación al alza de una respuesta inmunitaria significa aumentar una respuesta inmunitaria existente o un componente de una respuesta inmunitaria existente. La regulación al alza de respuestas inmunitarias puede ser usada para tratar trastornos alérgicos por alteración del equilibrio de respuestas de Th1 y Th2. Por ejemplo, la administración de los compuestos inmunomoduladores de la invención puede usarse para alterar el equilibrio de respuestas de Th1 y Th2, reduciendo con ello la respuesta inmunitaria de un sujeto a caspas de animales, polen, ácaros del polvo, venenos de himenópteros y otros antígenos o alérgenos.

La administración de los compuestos inmunomoduladores de la invención puede usarse también para tratar estados tales como el asma, la dermatitis atópica, las rinitis alérgicas, el eccema, la urticaria y las alergias alimentarias.

Puede usarse un compuesto inmunomodulador de la fórmula I para reducir una respuesta inmunitaria en un sujeto. Tal como se usa aquí, reducir una respuesta inmunitaria en un sujeto significa ocasionar una disminución de la producción de citoquinas, la proliferación de linfocitos, monocitos, macrófagos, células dendríticas o células mortíferas naturales, causar una disminución de la actividad lítica de células mortíferas naturales u ocasionar una disminución de la actividad lítica de células T citotóxicas.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto inmunomodulador de fórmula I como ingrediente activo para preparar un medicamento para desensibilizar a un sujeto contra la ocurrencia de una reacción alérgica en respuesta a contacto con un antígeno o un alérgeno particular. Tal como se usa en esta memoria, desensibilizar a un sujeto significa reducir la respuesta inmunitaria del sujeto a exposición a alérgenos o antígenos particulares. Por ejemplo, el sujeto puede manifestar una producción disminuida de IgE, una producción disminuida de células B que producen IgE, una producción disminuida de histamina, o una liberación disminuida de citoquinas, en respuesta a exposición a un alérgeno o un antígeno.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I para fabricar un medicamento para prevenir, mejorar o retardar la iniciación de asma en un sujeto.

Estudios recientes han indicado que la exposición a agentes microbianos durante la infancia puede conferir beneficios protectores, tales como proporcionar protección contra el desarrollo de asma y otros estados alérgicos. Se ha sugerido que el proporcionar antígenos seguros y eficaces que imiten los efectos protectores de patógenos microbianos sin los riesgos asociados, podría conferir una protección similar contra el desarrollo de alergias y asma (Liu, A.H. (2002). *J. Allergy Clin. Immunol.*, 109:379-92).

Un compuesto inmunoestimulador según la fórmula I, puede ser administrado a un sujeto en riesgo de desarrollar alergias o asma. Preferiblemente, el sujeto es un sujeto juvenil.

El ligando de TLR endotoxina está asociado con un fenómeno conocido como tolerancia de endotoxina. La endotoxina (conocida también como lipopolisacárido, o LPS) es un glicolípido que se encuentra en las membranas celulares de bacterias Gram-negativas. La endotoxina es uno de los más potentes estimuladores conocidos de respuestas inmunitarias, y la exposición a endotoxina induce la producción de citoquinas por monocitos y macrófagos.

La tolerancia a la endotoxina se refiere a la observación de que una dosis inicial baja o subletal de endotoxina da por resultado una respuesta inmunitaria disminuida a una dosis alta, posterior, de endotoxina y puede proteger contra las siguientes dosis letales de endotoxina. La respuesta inmunitaria disminuida se manifiesta en la regulación a la baja del grado de reacción de macrófagos, y niveles disminuidos de liberación de citoquinas en comparación con individuos que no han sido tratados previamente, o hechos tolerantes, con dosis bajas de endotoxina.

De modo semejante, la administración de los compuestos inmunomoduladores aquí descritos, puede suprimir las respuestas subsiguientes a ligandos de TLR4 tales como la endotoxina. Además, la administración de los compuestos inmunomoduladores descritos en esta memoria, pueden, asimismo, regular a la baja respuestas mediadas por la exposición subsiguiente a otros ligandos de TLR., tales como lipoproteínas, y ligandos de TLR9, tales como ácidos nucleicos de CpG sin metilar, según se describe con más detalle en el Ejemplo 7.

La administración de los compuestos inmunomoduladores de la invención puede ser usada para suprimir la aptitud de ligandos de TLR tales como DNA bacteriano, RNA viral, proteínas endógenas humanas de choque térmico, lípidos parásitos o bacterianos, glicolípidos o lipoproteínas, para estimular respuestas inmunitarias.

Se ha mostrado que ligandos de TLR tales como la endotoxina, atraen o exacerban un número de enfermedades de base inmunitaria. Por ejemplo, endotoxina derivada desde el intestino es liberada durante la enfermedad de injerto frente a hospedante después de realizar injertos de médula ósea, y aumenta la gravedad de los síntomas posteriores al injerto. La endotoxina es el principio activo para inducir respuestas pulmonares provocadas por irritantes medioambientales u ocupacionales tales como el polvo de granos, el polvo del algodón o los polvos procedentes del tratamiento de poliería. Se ha encontrado que la endotoxina medioambiental intensifica las respuestas bronquiales del asma preexistente. Se ha encontrado que un ligando del TLR9 intensifica la proliferación de células B asociada con la secreción de anticuerpos en el lupus eritematoso sistémico. La tolerancia de TLRs puede evitar que los ligandos de TLR exacerben o causen enfermedades o síndromes tales como el lupus eritematoso sistémico, asma, aterosclerosis, enfermedad

del injerto frente al hospedante, fiebre del polvo de granos, la enfermedad intestinal inflamatoria, la artritis reumatoide, las mucositis y otras.

Un compuesto inmunomodulador según la fórmula I, puede ser administrado a un sujeto antes de una operación quirúrgica. El compuesto o compuestos pueden ser administrados desde varias horas hasta tres días antes de la operación quirúrgica.

Los animales hospedantes a los que los compuestos inmunomoduladores de la presente invención son administrados útilmente, incluyen los seres humanos así como también mamíferos no humanos, aves, peces, reptiles, etc.

La formulación específica de composiciones eficaces desde el punto de vista terapéutico, de un compuesto de fórmula I, puede llevarse a cabo, por tanto, de cualquier modo adecuado que pueda hacer que el compuesto o compuestos inmunomoduladores estén biodisponibles y sean seguros y eficaces para el sujeto al que se administra la formulación.

Los modos de administración pueden comprender el uso de cualesquiera medios y/o métodos adecuados para suministrar el compuesto inmunomodulador a uno o más lugares del cuerpo del animal hospedante en que el adyuvante y los antígenos asociados sean eficaces desde el punto de vista inmunoestimulador. Los modos de administración pueden incluir administración parenteral, tal como inyección subcutánea (SC), o administración transmucosal, intranasal (IN), oftálmica, transdérmica, intramuscular (IM), intradérmica (ID), intraperitoneal (IP), intravaginal, pulmonar, y rectal, así como administración no parenteral, por ejemplo, oral.

Las dosis y las formas de dosificación adecuadas para los compuestos inmunomoduladores pueden determinarse con facilidad por los expertos en la técnica sin experimentación indebida, mediante el uso de técnicas convencionales de determinación del título de anticuerpos y de protocolos convencionales de bioeficacia/biocompatibilidad, y dependiendo del efecto terapéutico deseado y del período de tiempo de actividad deseado.

Los compuestos inmunomoduladores de fórmula I pueden ser administrados útilmente al animal hospedante con cualquier otro agente activo, farmacológica o fisiológicamente adecuado, por ejemplo, sustancias antigénicas y/u otras sustancias biológicamente activas.

Las formulaciones pueden incluir componentes adicionales tales como solución salina, aceite, escualeno, dispersiones de aceite en agua y liposomas.

35 *Métodos generales de síntesis*

1. Síntesis de compuestos de tipo diamida

En general, un 2-amino-1,3-dihidroxiopropano ó ($\pm$) serinol es transformado en el compuesto 2-azido por reacción con azida trifluorometanosulfónica seguida de protección como el per-acetato para una manipulación fácil. El compuesto que resulta es desacetilado, seguido de reacción con un alcohol primario de un resto de un diol, apropiadamente activado. El resto de alcohol primario del producto de esta reacción es protegido luego, por ejemplo, usando TBDPSCl, seguido de reacción con fosgeno y después alcohol alílico, obteniendo un diol totalmente protegido. El diol protegido se trata después para separar el grupo de protección desde el alcohol primario. El alcohol sin proteger se hace reaccionar con un reactivo de fosforilación apropiadamente funcionalizado, de fórmula (11) como se indica en los Ejemplos, formando un éster fosfato. El resto azido del producto se reduce y se hace reaccionar luego con un ácido acilado activado para formar una amida. La amina terminal protegida sobre el fosfato funcionalizado es desprotegida y seguidamente se hace reaccionar con fosgeno o un ácido dicarboxílico en presencia de un agente deshidratante tal como EDC. Los grupos fosfato del compuesto que resulta son desprotegidos luego, obteniendo una amida aracémica.

2. Síntesis de compuestos diamida quirales, de Tipo 1

En general, un éster quiral de un aminoácido con la estructura deseada es protegido con un éster bencimidato. El compuesto protegido se hace reaccionar con un agente reductor, por ejemplo, DIBAL o semejante, para reducir el resto de ácido del aminoácido a un alcohol. El alcohol que resulta se hace reaccionar con un alcohol primario de un resto de diol, apropiadamente activado, seguido de separación del grupo protector bencimidato, obteniendo un amino-dioli. El dioli se hace reaccionar luego con un cloruro de ácido apropiado obteniendo una dioli-amida.

La dioli-amida se hace reaccionar luego con un reactivo de fosforilación apropiadamente funcionalizado, en el grupo hidroxilo primario libre. El compuesto que resulta se esterifica en el grupo de alcohol secundario con un resto acilo apropiado. Después, el grupo N-BOC es separado desde el grupo amino introducido por el reactivo de fosforilación (11), obteniendo un éster fosfato con una amina primaria libre. El producto se hace reaccionar después con fosgeno o un ácido dicarboxílico en presencia de un agente deshidratante, obteniendo una diamida como producto. Los grupos fosfato protegidos de la diamida obtenida como producto son desprotegidos luego, típicamente con paladio (0) y fenilsilano.

3. Síntesis de compuestos diamida quirales, de Tipo 2

Compuestos diamida quirales, de Tipo 2, son sintetizados esencialmente como se ha descrito para los compuestos diamida quirales de Tipo 1, hasta el punto justamente después de la separación del grupo protector desde el grupo amino primario del compuesto éster fosfato. En este punto, un ácido dicarboxílico que posee uno de los restos ácidos protegidos, se hace reaccionar con el grupo amino primario, obteniendo una monoamida. El grupo de protección situado sobre el otro ácido carboxílico se separa luego, proporcionando un ácido carboxílico libre que después puede hacerse reaccionar con una amina primaria procedente de un sistema de fosfato apropiadamente sustituido, alternativo, en presencia de un agente deshidratante, obteniendo una diamida de tipo 2, que luego puede ser tratada para desproteger el grupo o grupos fosfato, obteniendo un compuesto de la invención deseado.

En el caso especial de compuestos de urea quirales, de tipo 2, de la invención, el grupo amino primario del grupo amino de N-BOC del éster fosfato es desprotegido y luego se hace reaccionar con cloroformiato de triclorometilo o semejante, con objeto de formar un compuesto isocianato. El isocianato se hace reaccionar entonces con una amina primaria procedente de un sistema de fosfato apropiadamente sustituido, alternativo, obteniendo como producto una urea de tipo 2. Este producto puede ser tratado luego para desproteger el grupo o grupos fosfato.

4. Análogos de glicerol-diamida

Estos compuestos de la invención poseen un resto éter unido al carbono que está en posición beta respecto al grupo fosfato, en lugar de un resto amida.

En general, estos compuestos se preparan mediante la eterificación de un glicerol quiral protegido, con un alcohol primario activado de un resto diol, seguido de esterificación del resto de alcohol secundario y subsiguiente desprotección del resto de glicerol, obteniendo un nuevo diol. El grupo hidroxilo primario del diol se protege después, y el grupo hidroxilo secundario es condensado con un resto acilo, obteniendo un diéster. El hidroxilo primario es desprotegido, seguido de esterificación con un agente de fosforilación, de cuyo compuesto es ejemplo (11), que figura más adelante. Después de desprotección del grupo amino introducido por el agente de fosforilación, el producto se hace reaccionar con fosgeno o un ácido dicarboxílico usando un agente deshidratante tal como EDC. La desprotección subsiguiente de los grupos fosfato proporciona compuestos de la invención.

En la síntesis descrita anteriormente en líneas generales, el sustituyente en R¹ de los compuestos de la invención puede variarse con facilidad utilizando diferentes compuestos de ácidos dicarboxílicos. Tales ácidos pueden ser copulados al grupo amino del éster fosfato intermedio del esquema de reacción anteriormente descrito, o bien usando un agente deshidratante tal como EDG, o mediante activación del ácido dicarboxílico, por ejemplo sintetizando el correspondiente cloruro de diácido.

Los sustituyentes representados por R² y R⁵ variables de la fórmula I anterior, pueden ser variados con facilidad utilizando un ácido apropiadamente activado o un cloruro de ácido en la reacción de amidación o de esterificación del heteroátomo representado por X ó Y en la fórmula I.

Los sustituyentes representados por R³ y R⁶ variables de la fórmula I, pueden ser variados usando un intermedio que contenga el número deseado de átomos de carbono que contenga también un átomo de carbono activado funcionalmente, por ejemplo, un halógeno o un sulfonato (OSO₂CH₃, OSO₂CF₃, OSO₂CH₂C₆H₄-p-CH₃) que puede hacerse reaccionar con los materiales de partida, azido diol, aminoalcohol o glicerol.

Los sustituyentes representados por R⁴ y R⁷ variables de la fórmula I, pueden ser variados usando un ácido apropiadamente activado o un cloruro de ácido en la esterificación del grupo hidroxilo secundario usado en los esquemas de reacción anteriormente indicados.

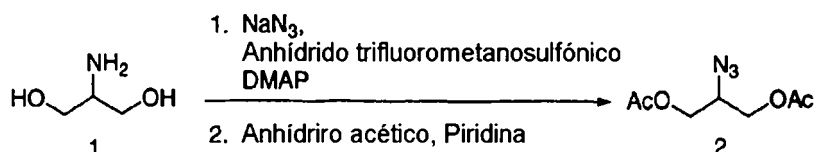
Los valores de a y b en los compuestos de fórmula I, pueden ser variados usando el compuesto apropiado (11) que figura más adelante. Los valores de d y e variables de los compuestos de fórmula I, pueden ser modificados usando los materiales de partida de 2-aminodiol o 2-hidroxidiol apropiados.

Ejemplos de síntesis

Todos los productos de reacción de los métodos de síntesis que se describen más adelante, dieron espectros de NMR satisfactorios y perfiles satisfactorios de cromatografía en capa fina sobre gel de sílice, satisfactorios. Todos los análisis cromatográficos fueron realizados sobre gel de sílice y la elución fue monitorizada por cromatografía en capa fina. Todas las reacciones completadas fueron determinadas mediante análisis por cromatografía en capa fina. Todas las reacciones fueron llevadas a cabo bajo nitrógeno, a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo. Todos los disolventes de las reacciones eran anhidros a menos que se haga notar de otro modo. El desarrollo típico de las reacciones químicas que se describen más adelante incluye lavados acuosos, desecación sobre sulfato sódico anhidro y separación de disolventes a presión reducida.

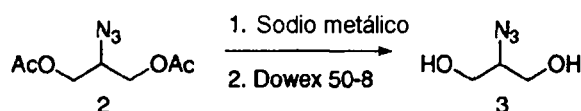
Ejemplo 1

Succinato-1

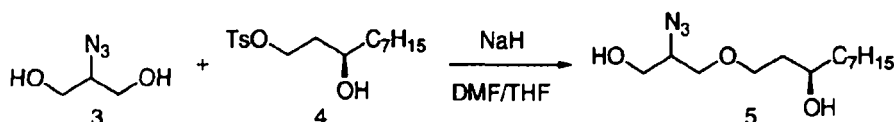


15 A una solución de azida de sodio (107,67 g) en 250 ml de agua se añadieron 300 ml de cloruro de metileno. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota anhídrido trifluorometanosulfónico (57 ml) a una velocidad de 0,32 ml/minuto. La mezcla se agitó durante un período de tiempo adicional de 6 horas a 0°C y se mantuvo a -20°C durante 72 horas. La mezcla se calentó a 10°C seguido de extracción con cloruro de metileno en un embudo de separación de Teflón®. Las capas orgánicas reunidas se secaron (sulfato magnésico). La suspensión anterior se filtró lentamente hacia una solución agitada de (±) 2-amino-1,3-dihidroxiopropano (1) (9,89 g) en metanol (200 ml) y 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP, 54 g) a 10°C. La mezcla de reacción que resulta se agitó durante 17 horas a temperatura ambiente.

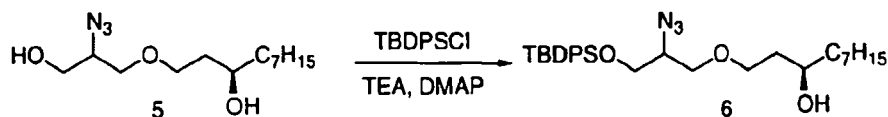
20 El disolvente se separó a presión reducida y el residuo se disolvió en piridina (200 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota anhídrido acético (50 ml) y la mezcla se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. Se añadió anhídrido acético adicional (20 ml) y al cabo de 4 horas la mezcla se vertió sobre hielo y se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 16 g de diacetato (2) como un aceite.



35 El diacetato (2) (16 g) se disolvió en metanol (150 ml) y se añadió lentamente sodio metálico (2,0 g). La mezcla se agitó durante 90 minutos y se añadió resina Dowex®50-8 hasta que el pH fue menor o igual que 7. Se filtró la mezcla seguido de concentración del filtrado y cromatografía, obteniendo 6,73 g del diol (3).



45 A una suspensión de hidruro de sodio (1,24 g de una dispersión oleosa al 60% lavada tres veces con hexanos y secada bajo nitrógeno) en dimetilformamida (DMF, 200 ml) se añadió gota a gota el azido-diolo (3) (6,73 g) en THF (100 ml), seguido por la adición gota a gota de 3-R-hidroxi-1-O-tosil-1-decanol (4) (tosilato, 9,44 g) en THF (100 ml). La mezcla se agitó durante 16 horas, se diluyó con metanol, se agitó con Amberlita® 25 H⁺ durante 25 minutos y se concentro hasta sequedad. Por cromatografía se obtuvieron 4,37 g de (5).

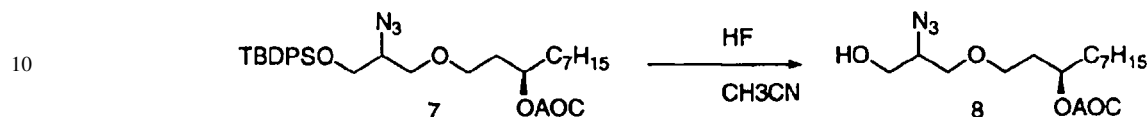


60 A una solución del diol (5) (5,32 g) en cloruro de metileno (30 ml) se añadió trietilemina (TEA, 6 ml) y DMAP (indicios), seguido de cloruro de t-butildifenisililo (TEDPSCI, 5 ml) y la mezcla se agitó durante la noche. La mezcla se trató del modo usual. Por cromatografía se obtuvieron 3,6 g del alcohol secundario (6) al estado de un aceite.

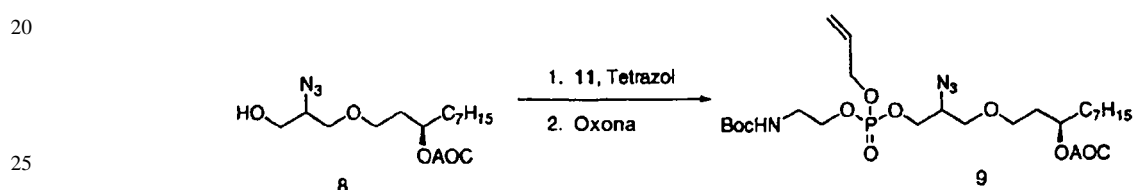


ES 2 315 511 T3

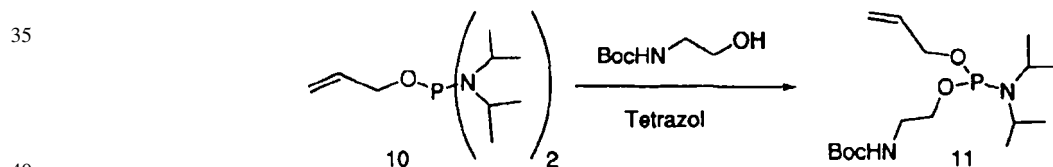
A una solución del alcohol secundario (6) (2,95 g) en tolueno (30 ml) se añadió piridina (1,8 ml) seguida de la lenta adición de fosgeno (4,5 ml de una solución 1,93 M en tolueno) a 0°C. Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, se añadió alcohol alílico (3,1 ml) gota a gota. Después de un período adicional de agitación de 60 minutos a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 3,24 g del alcohol protegido (7) al estado de un aceite.



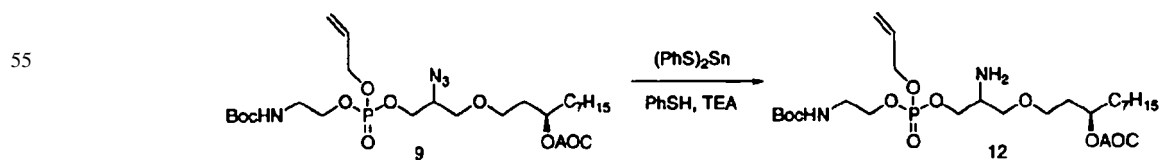
15 A una solución del alcohol protegido (7) (1,29 g) en cloruro de metileno (3 ml) se añadió ácido fluorhídrico (HF, 4 ml) en acetonitrilo (12 ml). La mezcla se agitó durante la noche y se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 150 mg del alcohol (8) como un aceite.



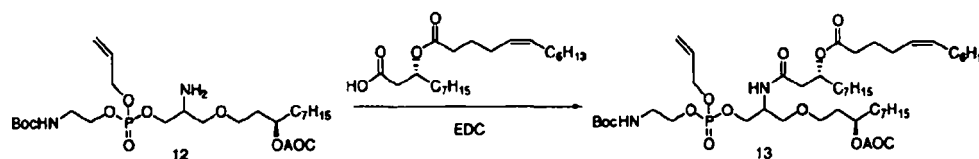
30 A una solución del alcohol (8) (150 mg) en cloruro de metileno (0,6 ml) se añadió tetrazol (74 mg) y el reactivo de fosforilación (11) (175 mg). Al cabo de 30 minutos, se añadió oxona (323 mg) en una solución enfriada de THF (0,5 ml)-agua (0,5 ml) a la mezcla de reacción enfriada. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 242 mg de (9) como un aceite.



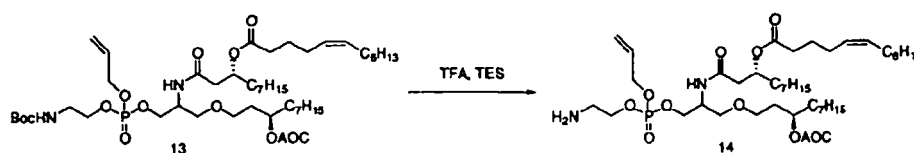
45 Para hacer el reactivo de fosforilación 11, a una solución de diisopropilamina destilada (9,0 ml) en cloruro de metileno, se añadió tetrazol (4,51 g) a temperatura ambiente seguido de agitación durante 1,5 horas. Se añadió fosfordiamidita de alilo (10) (20,5 ml), gota a gota, a una velocidad de 6,5 ml/hora, seguido de agitación durante un período adicional de 3 horas. Se añadió N-Boc-2-aminoetanol (10,36 g) en cloruro de metileno (50 ml) a la mezcla de reacción anterior, gota a gota, a una velocidad de 8,4 ml/hora, seguido de agitación durante un período adicional de 18 horas. La suspensión blanca se filtró a través de Celita 545 con dos lavados de 20 ml con cloruro de metileno. El filtrado se concentró seguido por la suspensión y filtración del residuo con hexanos (200 ml). El filtrado de hexanos resultante se concentró a sequedad y se sometió a destilación azeotrópica con 2 porciones de 10 ml de tolueno obteniendo el producto crudo (11) (21,54 g) en forma de un aceite.



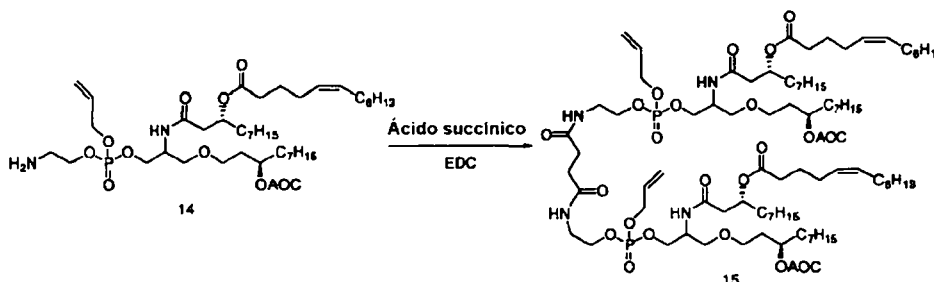
65 A una suspensión de diitiofenol-estaño (1,3 g) en cloruro de metileno (7,8 ml) se añadió tiofenol (400 µl) seguido de TEA (543 µl). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos seguido de parada de la agitación y dejando que el residuo sedimentara en el fondo del matraz. Se añadió 1,0 ml de la solución anterior a una solución de la azida (9) (242 mg) en cloruro de metileno (0,5 ml) y se dejó agitar durante 30 minutos. El apagado con NaOH 0,1 N seguido del tratamiento habitual proporcionó 193,1 mg de la amina (12) como un aceite.



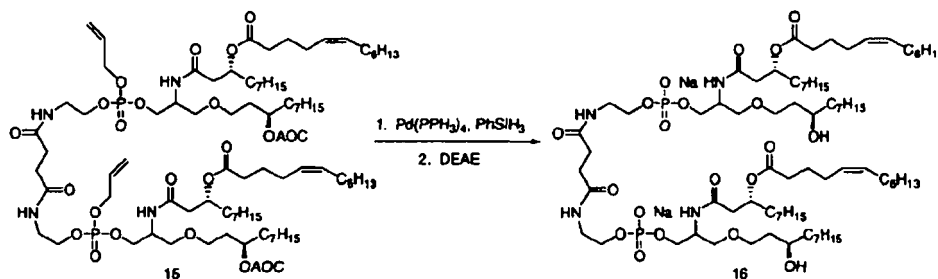
A una solución desecada de la amina (12) (193 mg) y ácido acílico (que puede prepararse según Christ *et al.*, Patente de EE.UU. No. 5.530.113) (132 mg) en cloruro de metileno, se añadió hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC, 93 mg). Después de agitar a temperatura ambiente durante 90 minutos, la reacción se apagó y se trató del modo habitual obteniendo 232 mg del fosfato protegido (13) como un aceite.



A una solución del fosfato protegido (13) (232 mg) en cloruro de metileno (1 ml) se añadió trietilsilano (TES, 120 μ l) y ácido trifluoroacético (TFA, 1,2 ml) seguido de agitación durante 30 minutos. El TFA se separó a presión reducida seguido de destilación azeotrópica con 3 porciones de 5 ml de tolueno. Se añadió 20 ml de cloruro de metileno y la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 174 mg de la amina libre (14) en forma de un aceite.



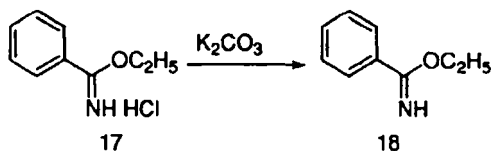
A una solución desecada de la amina libre (14) (174 mg) en cloruro de metileno (0,5 ml) se añadió ácido succínico (12,1 mg) y EDC (59 mg). Al cabo de 1 hora la mezcla de reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 143,1 mg del difosfato bloqueado (15) en forma de un aceite.



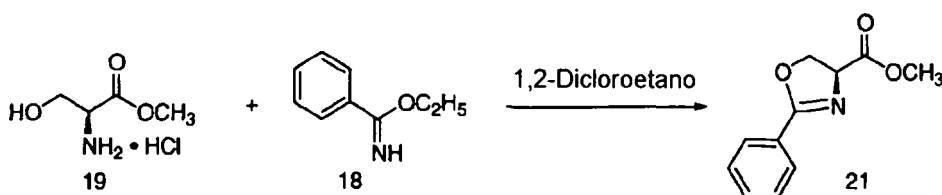
A una solución del difosfato bloqueado (15) (177,9 mg) en cloroformo desgasificado (1,7 ml) en una caja seca, se añadió primeramente fenilsilano (PhSiH_3 , 50 μ l) y luego tetrakis(trifenilfosfina) paladio (0) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 70 mg). Al cabo de 1 hora la mezcla de reacción se retiró de la caja y se añadió cloroformo:metanol:agua (2:3:1), y la mezcla se agitó durante 1 hora. Se vertió sobre una columna de cromatografía de dietilamino-etilcelulosa (DEAE). Por elución de la columna con un gradiente lineal de acetato amónico de 0,0 M a 0,1 M en una mezcla de cloroformo:metanol:agua (2:3:1), extracción de las fracciones deseadas con un volumen igual de cloroformo, concentración a sequedad y la adición de NaOH 0,1 N (175 μ l) seguido de liofilización, se obtuvieron 136,2 mg de (16) al estado de un sólido blanco.

Ejemplo 2

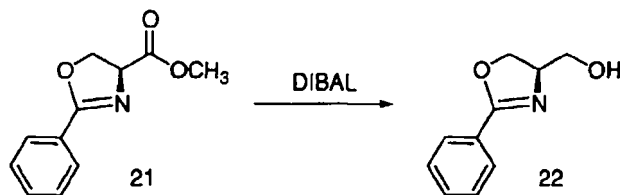
Malonato quirral - Tipo 1



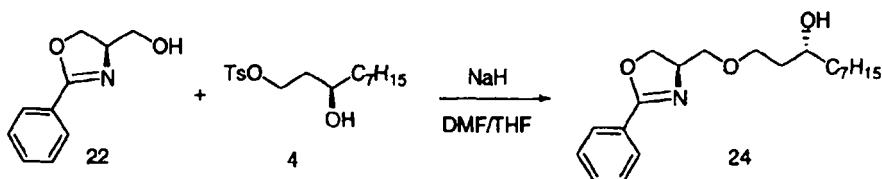
A una solución enfriada de carbonato potásico (165 g) en agua (575 ml) se añadió cloruro de metileno (200 ml) seguido de hidrocloreto de bencimidato de etilo (17) (100 g) después de cuyo tiempo la mezcla se agitó durante 8 minutos. Se dejaron separar las capas y la capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno. Las capas orgánicas se reunieron, se secaron y se separó el disolvente a presión reducida obteniendo 83 g de (18).



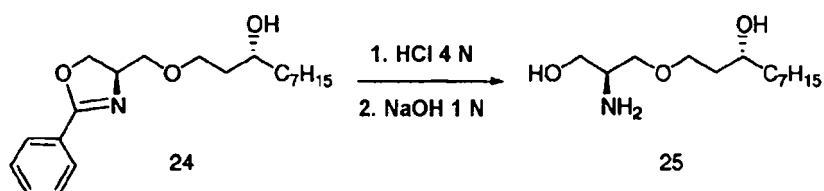
A una solución de hidrocloreto del éster metílico de L-serina (19) (41,6 g) en 1,2-dicloroetano (450 ml) se añadió bencimidato de etilo (18) (36 g). La mezcla se calentó a reflujo durante 20 horas, se enfrió, se filtró a través de tierra de diatomeas y se concentró a sequedad obteniendo 56 g del éster etílico (21) como un sólido blanco.



A una solución del éster etílico (21) (56 g), enfriada con hielo, en THF (500 ml) se añadió gota a gota hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL, 545 ml de una solución 1 M en hexano). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche y luego se vertió cuidadosamente sobre una solución acuosa de sal de Rochelle (500 g en 1,0 litro de agua). La mezcla se agitó durante 1 hora y se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 25,5 g del alcohol (22) como un sólido blanco.

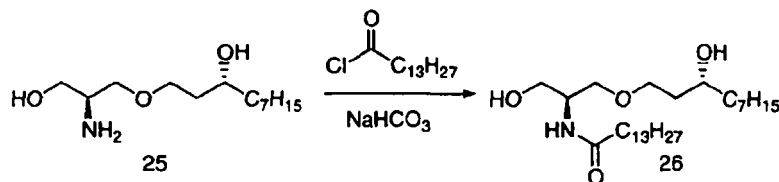


A una suspensión de hidruro de sodio lavado (5,3 g de una dispersión oleosa al 60%) en DMF (200 ml), se añadió el alcohol (22) (24 g) en 250 ml de THF. Al cabo de 30 minutos se añadió el tosilato (4) en 250 ml de THF a lo largo de 2,5 horas y se agitó durante la noche. La mezcla se enfrió en hielo, se añadió metanol, se separó el disolvente a presión reducida y se sometió a cromatografía obteniendo 4,32 g del alcohol (24) como un aceite.

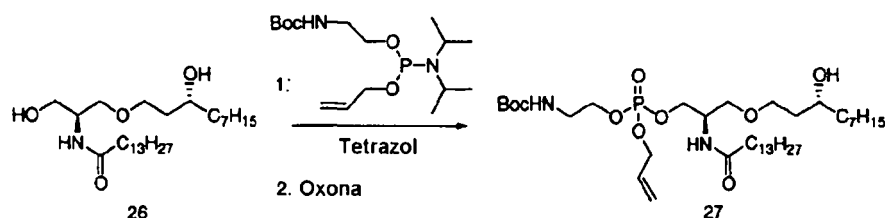


ES 2 315 511 T3

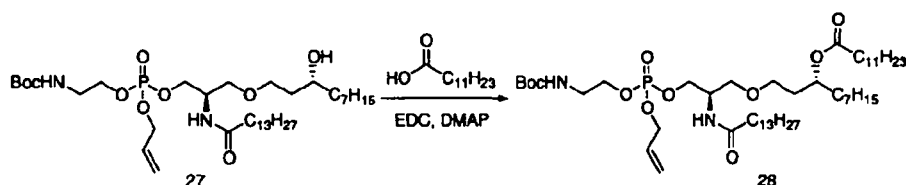
El alcohol (24) (4,3 g) se disolvió en solución acuosa 4 N de ácido clorhídrico y se calentó a reflujo durante 20 horas. Se enfrió la mezcla, se filtró, se extrajo con éter, se basificó con hidróxido de sodio y se extrajo dos veces con cloroformo. Las capas clorofórmicas reunidas se secaron y se separó el disolvente obteniendo 2,88 g del diol (25) como un aceite.



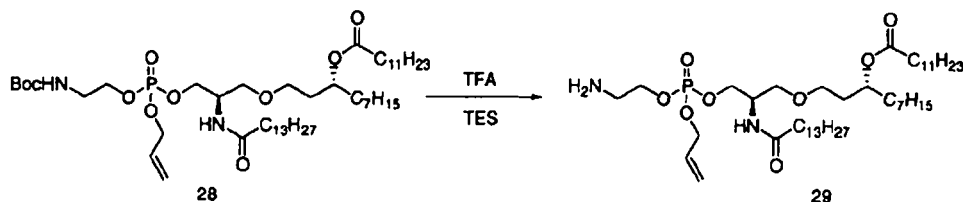
El diol (25) (2,88 g) se disolvió en solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (45 ml) y THF (25 ml), y se dejó agitar durante cinco minutos. Se añadió gota a gota cloruro de miristoilo (3,4 ml) a lo largo de un período de 25 minutos al cabo de cuyo tiempo la mezcla de reacción se dejó agitar durante una hora más. La mezcla de reacción se trató del modo habitual y se sometió a cromatografía, obteniendo 3,07 g del alcohol (26) como un aceite.



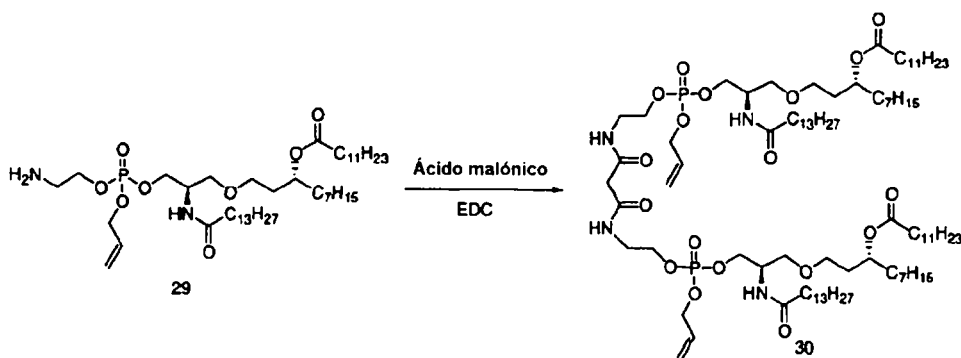
A una solución del alcohol (26) (1,78 g) en cloruro de metileno (140 ml) se añadió tetrazol (683 mg) seguido del reactivo de fosforilación (11) (1,6 ml). Al cabo de 30 minutos, la mezcla se enfrió en hielo y se añadió THF (105 ml) seguido de una solución de oxona (3 g en 90 ml de agua). Al cabo de 5 minutos, se retiró el baño de hielo y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla de reacción se trató del modo habitual y se sometió a cromatografía, obteniendo 2,99 g del alcohol (27) como un aceite.



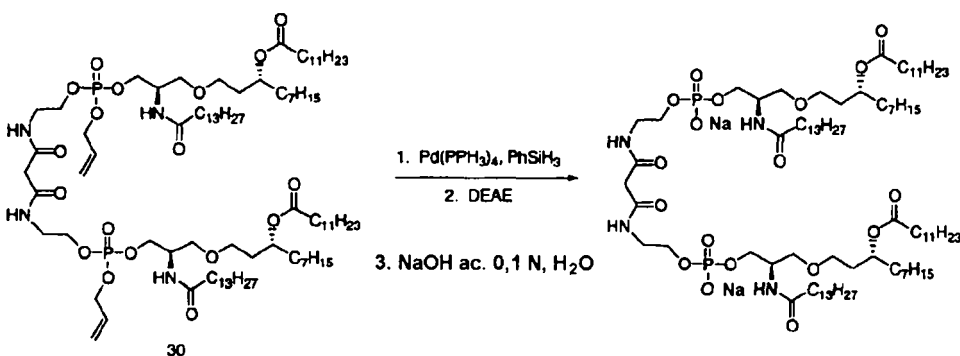
A una solución del alcohol (27) (3,9 g) en cloruro de metileno (126 ml) se añadieron EDC (10,8 g), DMAP (66 mg) y ácido dodecílico (1,62 g), y se agitó durante la noche. Se añadieron más ácido (1,6 g), EDC (1 g) y DMAP (0,5 g). Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se trató del modo habitual y se sometió a cromatografía obteniendo 2,07 g de amina protegida con BOC en el N (28).



A una solución de la amina protegida con BOC en el N (28) (187,3 mg) en cloruro de metileno (1,5 ml), se añadieron TES (240 μ l) y TFA (300 μ l) y la mezcla se agitó durante 45 minutos. Se añadió tolueno y se separó el disolvente a presión reducida. El residuo se disolvió en cloruro de metileno y se trató del modo habitual obteniendo 154 mg de la amina (29) como un aceite.



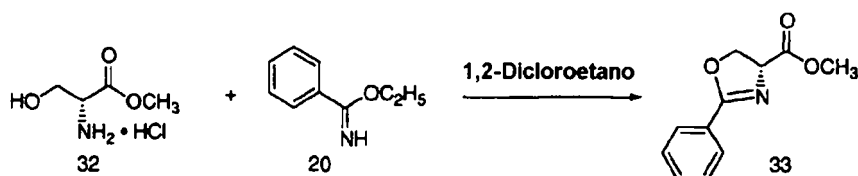
A una solución enfriada con hielo de la amina (29) (75,6 mg) y ácido malónico (4,8 mg) en cloruro de metileno (0,5 ml), se añadió EDC (27 mg), seguido de la retirada del baño de enfriamiento. Al cabo de 1 hora se añadió un indicio de DMAP. Después de 2,5 horas, la mezcla se sometió directamente a cromatografía obteniendo 54,1 mg del dímero como producto (30).



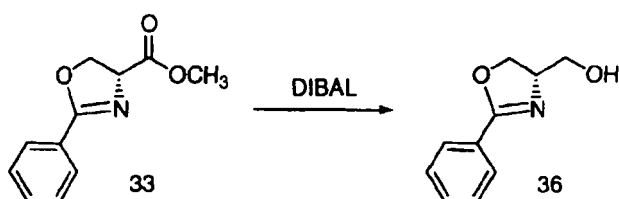
A una solución del dímero (30) (54 mg) en cloroformo desgasificado (2 ml) se añadieron PhSiH_3 (14 μl) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (18 mg) seguido de la retirada del baño de enfriamiento. Al cabo de 1 hora, la reacción se apagó con una mezcla de cloroformo:metanol:agua (2:3:1), se vertió sobre una columna de cromatografía de celulosa DEAE y se sometió a cromatografía obteniendo un semisólido. El sólido se disolvió en agua estéril, se añadió hidróxido de sodio 0,1 N (306 μl) y la mezcla se liofilizó, obteniendo un sólido blanco (31) (25 mg).

Ejemplo 3

Malonato quiral - Tipo 2

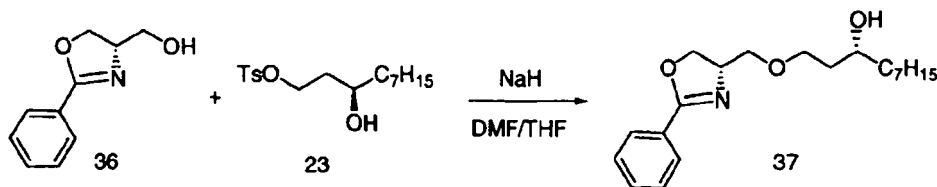


A una solución de hidrocloreuro del éster metílico de D-serina (32) (25 g) en dicloroetano (270 ml) se añadió bencimidato de etilo (20) (24 g). Al cabo de 20 horas a reflujo, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de tierra de diatomeas y se separó el disolvente a presión reducida, obteniendo 34 g del éster metílico (33) como un sólido blanco.

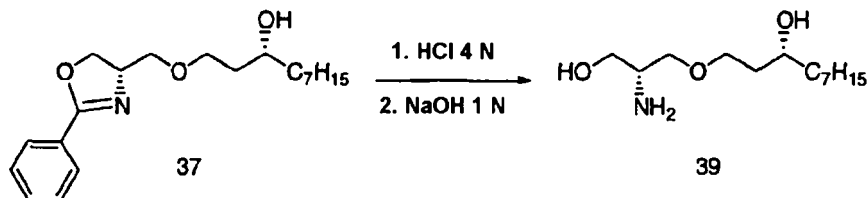


ES 2 315 511 T3

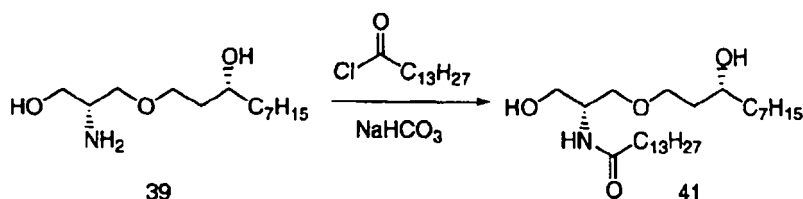
A una solución enfriada con hielo del éster metílico (33) (34 g) en THF (300 ml) se añadió gota a gota una solución de DIBAL en hexano (1,0 M, 322 ml). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche y luego se vertió cuidadosamente en una solución acuosa de sal de Rochelle. La mezcla se agitó luego durante 1 hora y se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 18,6 g del alcohol (36) como un sólido blanco.



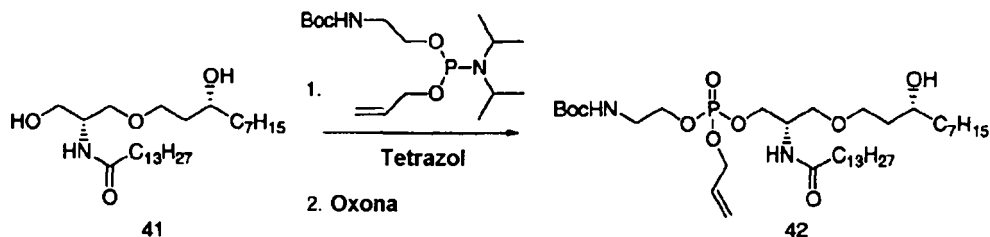
A una suspensión de hidruro de sodio lavado (4 g de una suspensión oleosa al 60%) en DMF (100 ml) se añadió una solución del alcohol (36) (8,6 g) en THF (40 ml). La mezcla se agitó durante 1 hora y se añadió una solución del tosilato (23) (17,5 g) en THF (40 ml). La mezcla se agitó durante la noche y después se añadió tosilato (23) adicional (5 g) y se agitó durante otras 4 horas. Se añadió metanol a la mezcla de reacción enfriada, se separó el disolvente a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía obteniendo 1,03 g del alcohol (37) como un sólido.



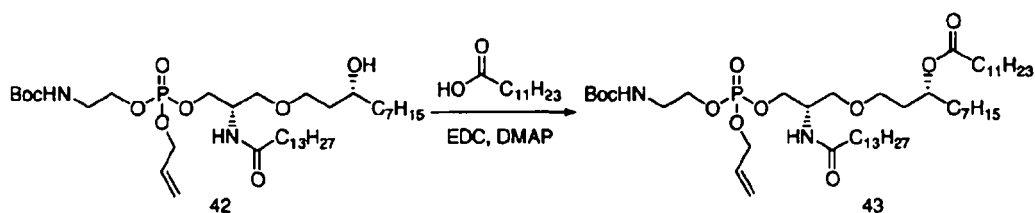
El alcohol (37) (1,03 g) se disolvió en solución acuosa de ácido clorhídrico 4 N (25 ml) y la mezcla se calentó a 100°C durante 20 horas. Se añadió ácido clorhídrico adicional (5 ml) y se continuó el reflujo durante 6 horas. La mezcla se enfrió, se lavó con éter, se basificó con solución acuosa de hidróxido de sodio 1 N y se extrajo (3x) con cloroformo. Las capas clorofórmicas reunidas se secaron y se separó el disolvente a presión reducida obteniendo 553 mg del amino-diol (39).



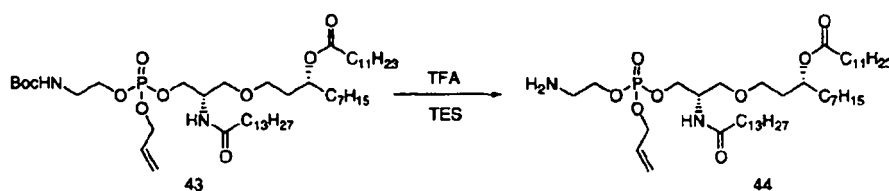
A una solución del amino-diol (39) (553 mg) en THF (3 ml), se añadió solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (6 ml) seguido de cloruro de miristoilo (628 μ l). Al cabo de 50 minutos, la mezcla de reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 389 mg del amido-diol (41) como un aceite.



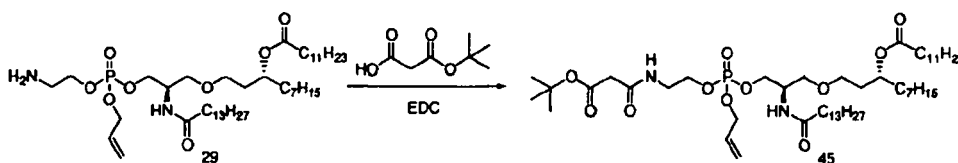
A una solución del amido-diol (41) (531 mg) en cloruro de metileno (40 ml), se añadió tetrazol (203 mg) y la mezcla se agitó durante 5 minutos. Después se añadió el reactivo de fosforilación (11) (482 mg). Al cabo de 20 minutos, se añadió reactivo de fosforilación adicional (11) (100 mg) y después de un período de tiempo adicional de 20 minutos, se añadieron 100 mg más. Después de un período adicional de 20 minutos, se añadieron 50 mg más. Al cabo de 20 minutos, la mezcla se vertió en una solución fría de THF (30 ml)/oxona (1,07 g)/agua (30 ml). La mezcla se agitó a 0°C durante 5 minutos y después 20 minutos a temperatura ambiente, al cabo de cuyo tiempo la mezcla de reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 852 mg del alcohol fosfatado (42) como un aceite.



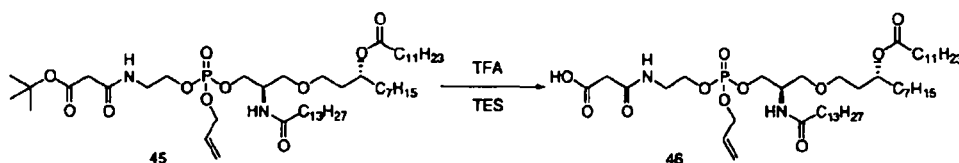
10 A una solución del alcohol fosfatado (42) (3,9 g) en cloruro de metileno (126 ml), se añadieron EDC (10,8 g), DMAP (66 mg) y ácido dodecílico (1,62 g). La mezcla de reacción se agitó durante la noche. Se añadieron ácido (1,6 g), EDC (1 g) y DMAP (0,5 g), adicionales. Después de 3 horas, la mezcla de reacción se trató del modo habitual y se sometió a cromatografía obteniendo 2,07 g de la amina protegida (43).



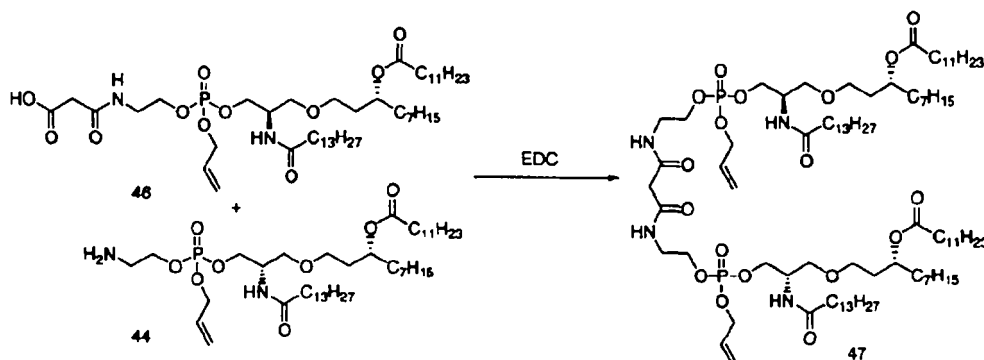
20 A una solución de la amina protegida (43) (194 mg) en cloruro de metileno (1,5 ml), se añadieron TES (240 μ l) y TFA (300 μ l). La mezcla se agitó durante 20 minutos y se añadió TES adicional (50 μ l). Al cabo de 1 hora se añadió tolueno, el disolvente se separó a presión reducida y luego la mezcla se trató del modo habitual. La amina libre, cruda, obtenida como producto (44) se usó inmediatamente en la reacción siguiente.



30 A una solución enfriada con hielo de la amina libre (29) (43,5 mg) en cloruro de metileno (250 μ l) se añadieron malonato de mono-t-butilo (8,3 μ l), EDC (12,4 mg) e indicios de DMAP. Se retiró el baño de hielo y al cabo de 2 horas la mezcla de reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 44 mg de la amida (45).



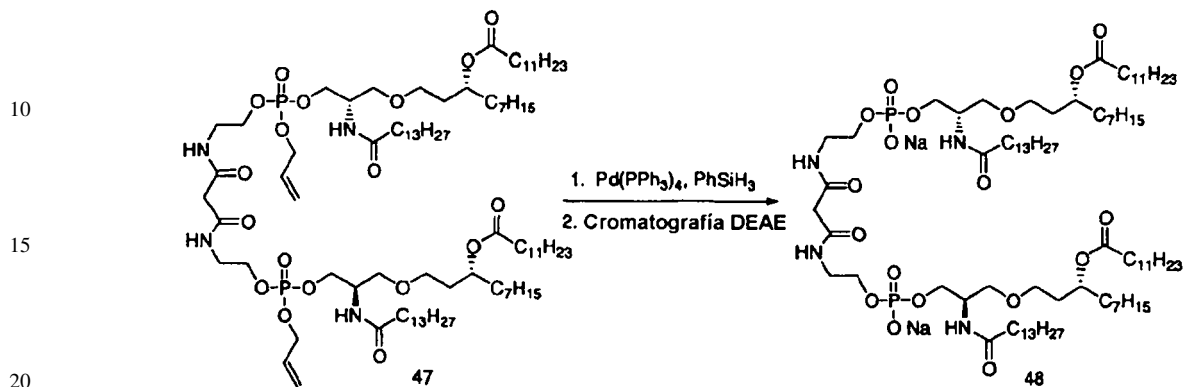
40 A una solución de la amida (45) (44 mg) en cloruro de metileno (0,5 ml) se añadieron TES (90 μ l) y TFA (100 μ l). Al cabo de 2 horas, se añadió tolueno y se separó el disolvente a presión reducida. La mezcla se trató del modo habitual obteniendo 44,2 mg del ácido libre (46).



ES 2 315 511 T3

A una solución enfriada con hielo del ácido libre (46) (41 mg) y la amina libre (44) (26,3 mg) en cloruro de metileno (500 μ l), se añadió EDC (13 mg) y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadieron EDC (5 mg) y DMAP (2 mg), adicionales, y al cabo de 1 hora la reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 32,7 mg del compuesto acoplado 47 como un aceite.

5



A una solución del compuesto acoplado (47) (32,7 mg) en cloroformo desgasificado (1,5 ml) en una caja seca, se añadió PhSiH_3 (8,5 μ l) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (11 mg). La mezcla se retiró de la caja y se enfrió en hielo. Al cabo de 15 minutos se separó el baño de hielo y después de 1 hora se añadió cloroformo:metanol:agua (2:3:1) y la mezcla se agitó durante 15 minutos y se mantuvo en refrigerador durante la noche. La mezcla se vertió luego sobre una columna de cromatografía de DEAE. Por cromatografía se obtuvieron 13,9 mg de un compuesto (48) en forma de un polvo blanco después de tratamiento con NaOH 0,1 N seguido de liofilización.

25

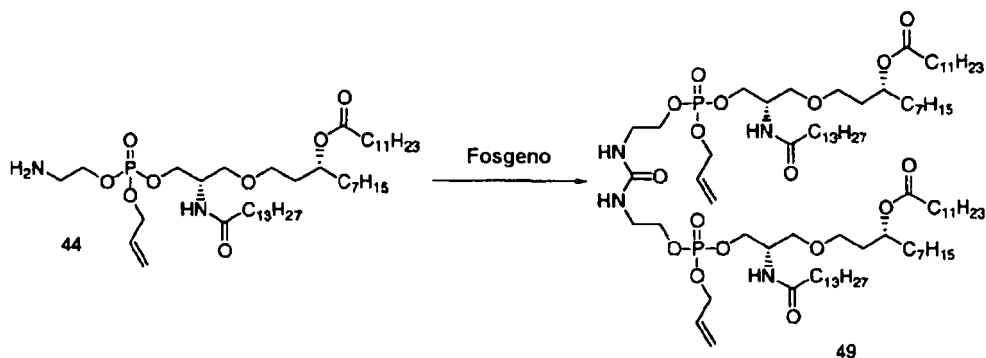
Ejemplo 4

Urea quiral - Tipo 1

35

40

45



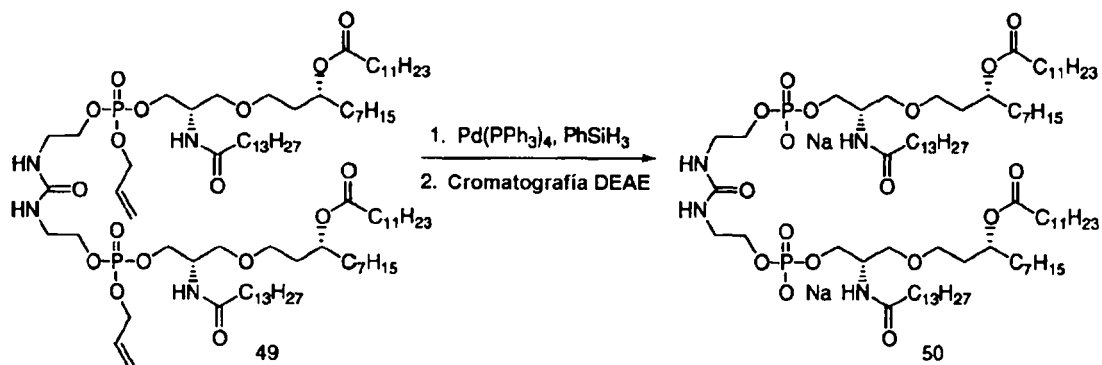
A una solución de la amina (44) (46,1 mg) en tolueno, se añadió solución saturada de bicarbonato sódico (0,5 ml) seguida de fosgeno (15 μ l de una solución 1,93 M en tolueno). Después de 30 minutos se añadió fosgeno adicional (10 μ l). Al cabo de 2 horas, se añadió más fosgeno (5 μ l). La reacción se apagó con solución acuosa de bicarbonato sódico y se trató del modo habitual, obteniendo 29,5 mg de la urea (49) con fosfatos protegidos.

50

55

60

65



ES 2 315 511 T3

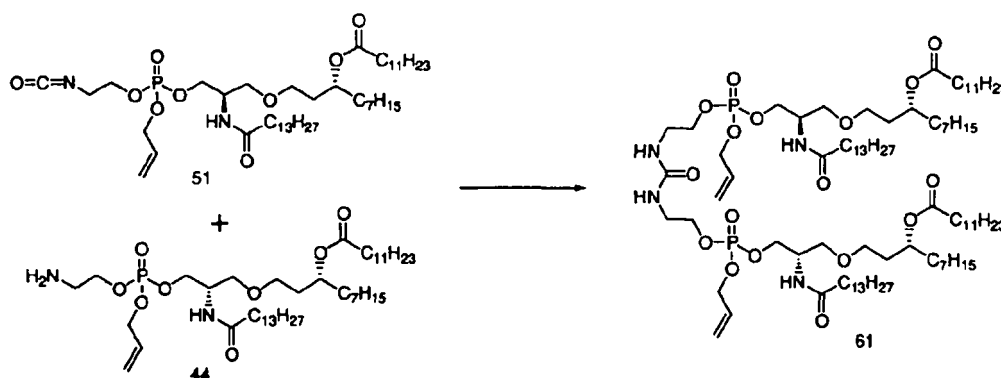
A una solución de la urea con fosfatos protegidos (49) (29,6 mg) en cloroformo desgasificado (1,5 ml), en una caja seca, se añadió PhSiH_3 (8 μl). El recipiente de reacción se separó de la caja seca y se colocó sobre hielo. Se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (10 mg) y al cabo de 5 minutos se retiró el baño de hielo. Después de 1 hora, la reacción se apagó mediante la adición de cloroformo:metanol:agua. La mezcla se agitó durante 15 minutos y se mantuvo durante la noche en el refrigerador. Se sometió a cromatografía sobre DEAE obteniendo 24,1 mg de (50) como un polvo seco después de tratamiento con NaOH 0,1 N seguido de liofilización.

Ejemplo 5

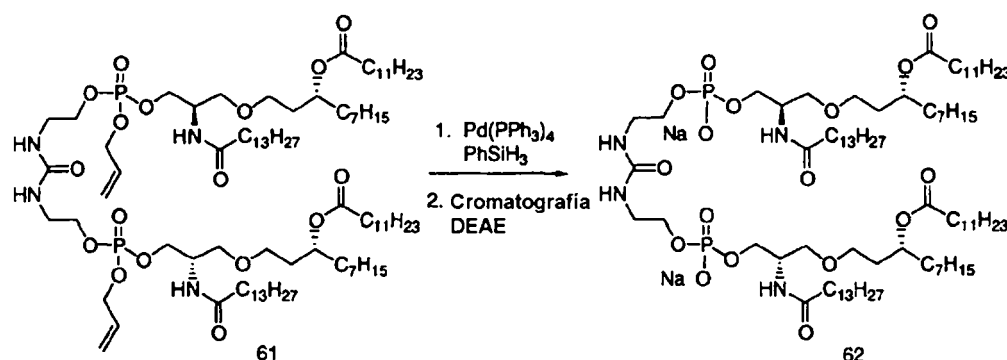
Urea quiral - Tipo 2



A una solución enfriada con hielo de cloroformiato de triclorometilo (2,6 μl) en cloruro de metileno (200 μl), se añadió una solución de la amina libre (29) (35 mg) y 1,8-bis-(dimetilamino)naftaleno en cloruro de metileno (200 μl). Al cabo de 5 minutos se retiró el baño de hielo. Después de 15 minutos, se añadió cloruro de metileno adicional y la mezcla se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 9,4 mg del isocianato (51) como un aceite.

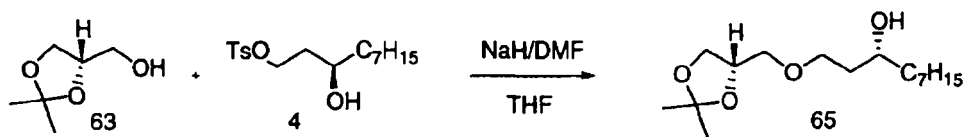


A una solución del isocianato (51) (9,4 mg) en cloruro de metileno (0,2 ml) se añadió una solución de la amina (44) (10,3 mg) en cloruro de metileno. Al cabo de 15 minutos, la mezcla de reacción se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 5,5 mg del compuesto acoplado (61) como un aceite.

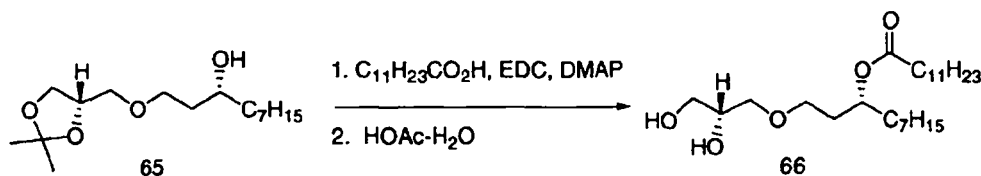


A una solución del compuesto acoplado (61) (25,2 mg) en cloroformo desgasificado (0,5 ml) en una caja seca, se añadieron PhSiH_3 (6,6 μl) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (8,8 mg). La mezcla se retiró de la caja y se enfrió en hielo. Al cabo de 5 minutos se separó el baño de hielo y después de 1 hora se añadió cloroformo:metanol:agua (2:3:1) y la mezcla se agitó durante 15 minutos y se mantuvo en refrigerador durante la noche. Después se vertió la mezcla sobre una columna de cromatografía de DEAE. La cromatografía proporcionó 7,5 mg de (62) como un polvo blanco después de tratamiento con NaOH 0,1 N seguido de liofilización.

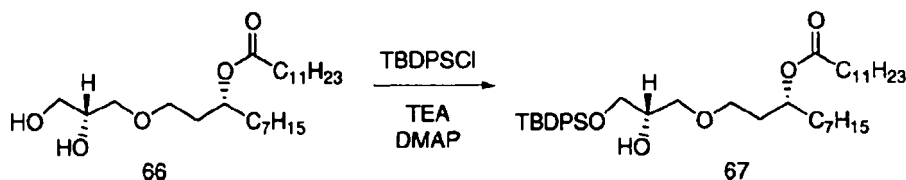
Ejemplo 6

Análogo quiral de glicerol, de Tipo 1

A una suspensión agitada de hidruro de sodio (145,5 mg de una dispersión oleosa al 60% lavada con hexanos) en DMF (12 ml), se añadió el (S)-(+)-alcohol (63) (0,41 ml) en 8 ml de THF, gota a gota, a lo largo de un período de 1 hora. La mezcla se agitó durante un período de tiempo adicional de 30 minutos seguido de la adición gota a gota del tosilato (4) (0,789 g) en 10 ml de THF durante un período de 10 minutos. La mezcla de reacción que resultó se agitó durante la noche. El tratamiento habitual proporcionó 0,56 mg del aducto deseado (65).



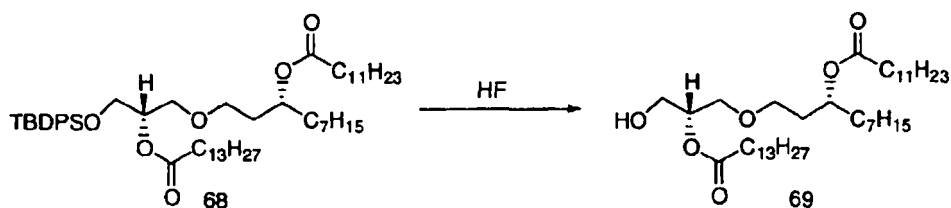
Una solución de ácido láurico (1,40 g), EDC (1,35 g), DMAP (0,04 g) y el aducto de alcohol (65) (0,564 g), en 4 ml de cloruro de metileno, se agitó durante 15 horas a temperatura ambiente. Se añadieron salmuera y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (1:1) y la mezcla se extrajo con cloruro de metileno. La mezcla se trató del modo habitual y se sometió a cromatografía. La fracción deseada se disolvió en 20 ml de ácido acético:agua (4:1) y se agitó durante 15 horas. Se separó el disolvente a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía obteniendo 0,77 g del diol semisólido (66).



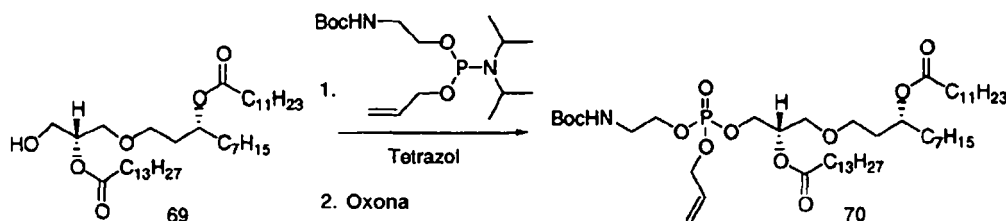
Una solución del diol (66) (0,22 g), DMAP (6,3 mg), TEA (100 μ l) y TBDPSCI (164 μ l), se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Se añadió metanol (2 ml) e indicios de solución acuosa de ácido clorhídrico, seguido de extracción con cloruro de metileno. La mezcla se trató del modo habitual. El residuo se sometió a cromatografía obteniendo 0,3 g del alcohol (67) como un aceite.



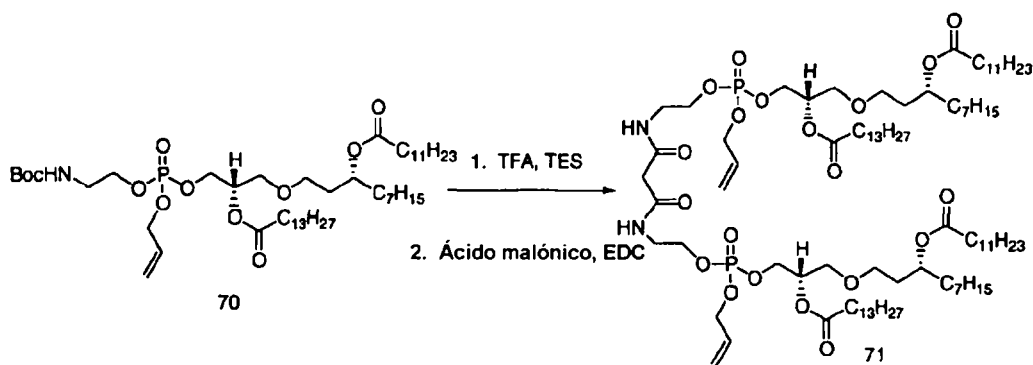
Una solución del alcohol (67) (0,3 g), DMAP (5,5 mg), EDC (258 mg), y ácido mirístico (308 mg), en cloruro de metileno (4 ml), se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente, seguido de la adición de salmuera y solución saturada de bicarbonato sódico. La mezcla se trató del modo habitual y se sometió a cromatografía obteniendo como producto 0,4 g del éter protegido con sililo (68).



A una solución del éter protegido con sililo (68) (195 mg) en acetonitrilo (2,7 ml), se añadió ácido fluorhídrico de 48% (0,756 ml). Después de 30 horas, se añadió solución saturada de bicarbonato sódico y la mezcla se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 94,7 mg del alcohol libre (69).

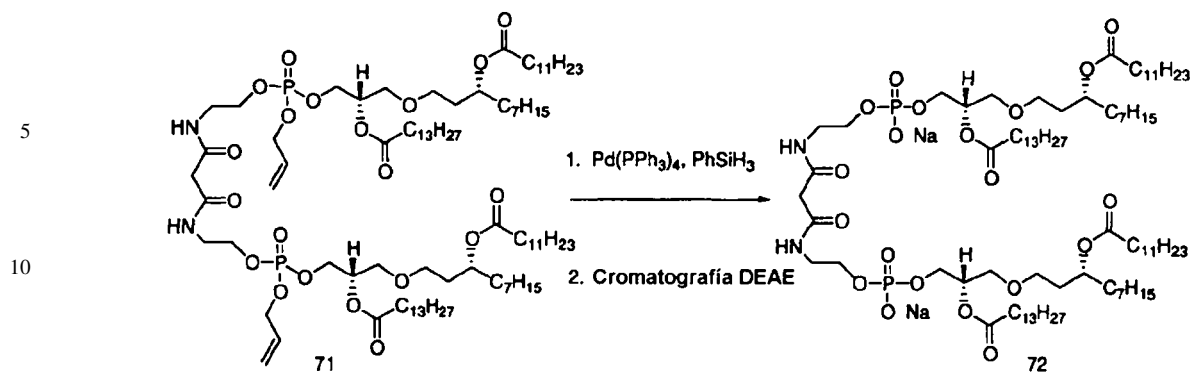


A una solución del alcohol libre (69) (57 mg) en cloruro de metileno (0,5 ml) se añadió tetrazol (15,6 mg) y el reactivo de fosforilación (11) (40 mg), a temperatura ambiente. Al cabo de cuatro horas la mezcla se enfrió a 0°C seguido de la adición de oxona (82 mg) en THF (0,5 ml):agua (0,6 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 80 minutos. La mezcla de reacción final se trató del modo habitual. Por cromatografía se obtuvieron 72 mg del fosfato protegido (70).



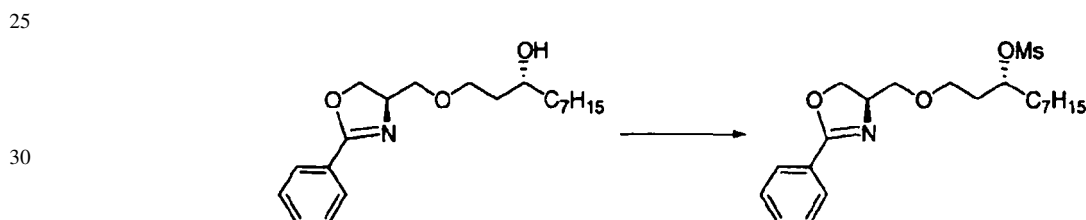
A una solución del fosfato protegido (70) (72 mg) en cloruro de metileno (1 ml), se añadieron TES (120 μ l) y ácido trifluoroacético (0,6 ml) seguido de agitación durante 1 hora. Se separó el TFA a presión reducida seguido de destilación azeotrópica con 10 ml de tolueno. Se añadieron 20 ml de cloruro de metileno y la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 0,52 g de un aceite.

La amina cruda se disolvió en cloruro de metileno (0,7 ml) seguido de la adición de ácido malónico (4,5 mg) y EDC (25,6 mg). La mezcla se agitó durante la noche y se trató del modo habitual obteniendo como producto 32,5 mg del dímero. (71).

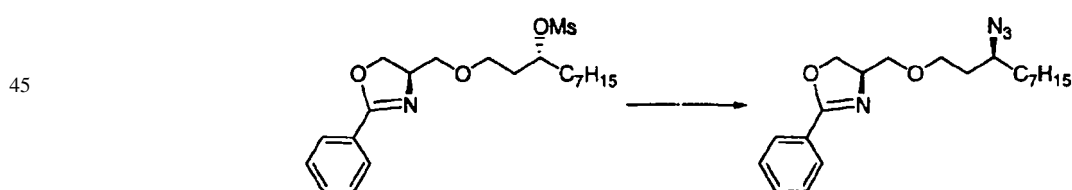


El dímero protegido (71) (32,5 mg) procedente de la reacción anterior, se disolvió en cloroformo desgasificado (2 ml) y se añadió PhSiH_3 (8,6 μl) en una caja seca. La mezcla se separó de la caja seca y se añadió $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (22,6 mg) pesado previamente en la caja seca. Al cabo de 2 horas, la mezcla se sometió a cromatografía sobre DEAE obteniendo 27,9 mg de sólido blanco (72) después de la adición de hidróxido de sodio 1 N (34,2 μl) seguido de liofilización.

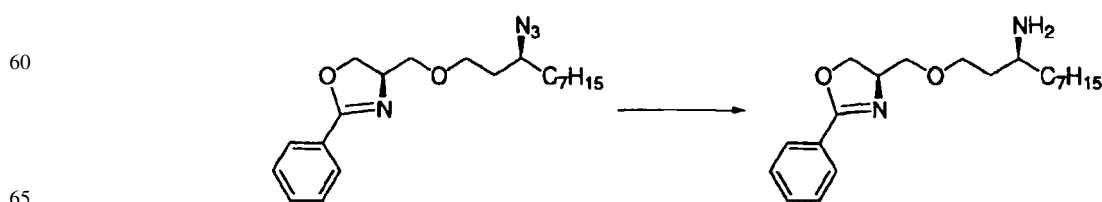
Preparación de ER-804253



El alcohol (558 mg) se disolvió en cloruro de metileno (5 ml) enfriado a 0°C y se añadió trietilamina (0,466 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 5 minutos, se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (0,142 ml). La mezcla se agitó durante 5 minutos más a 0°C y luego se calentó a temperatura ambiente. Después de agitar durante una hora más, la mezcla se trató del modo habitual con solución saturada de bicarbonato sódico, se extrajo con acetato de etilo y el extracto se lavó con agua, solución acuosa diluida de ácido clorhídrico, agua y salmuera, se secó y se separó el disolvente obteniendo 630 mg.

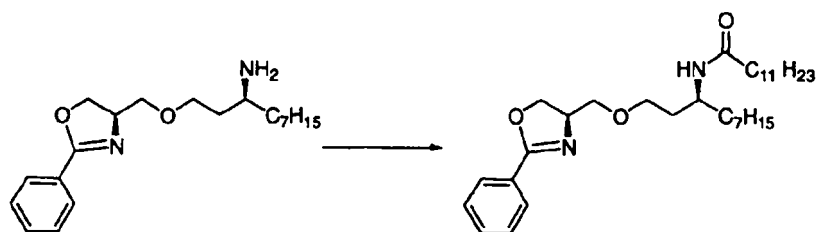


El mesilato (630 mg) y azida de sodio (299 mg), se disolvieron en DMSO (6 ml) y se calentó a 60°C durante 90 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se lavó con agua y salmuera. Después de extracción de los lavados acuosos, la capa orgánica reunida se secó, se concentró y se purificó sobre gel de sílice usando una relación 4:1 de hexanos a acetato de etilo, y las fracciones de producto desecadas dieron 420 mg.

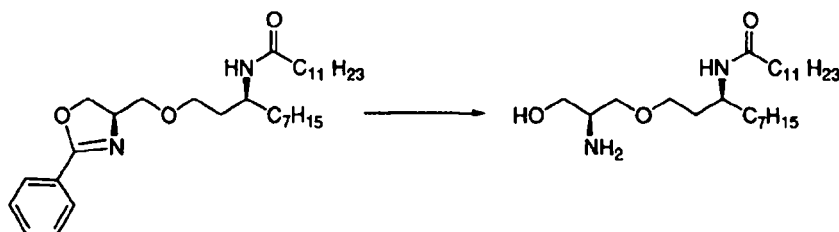


ES 2 315 511 T3

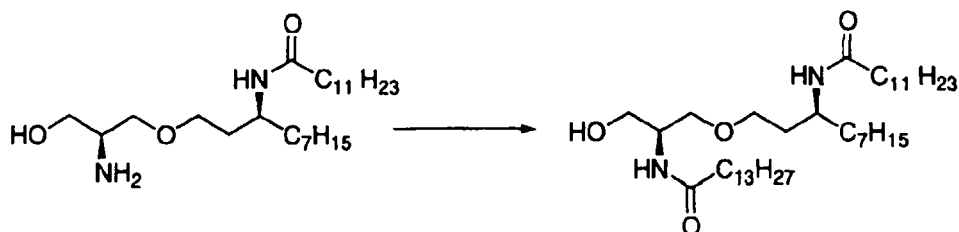
La azida (295 mg) se disolvió en etanol (5 ml) y se añadió catalizador Lindlar (200 mg). Después de agitar bajo atmósfera de hidrógeno gas a presión atmosférica, se secó la solución filtrada obteniendo 274 mg.



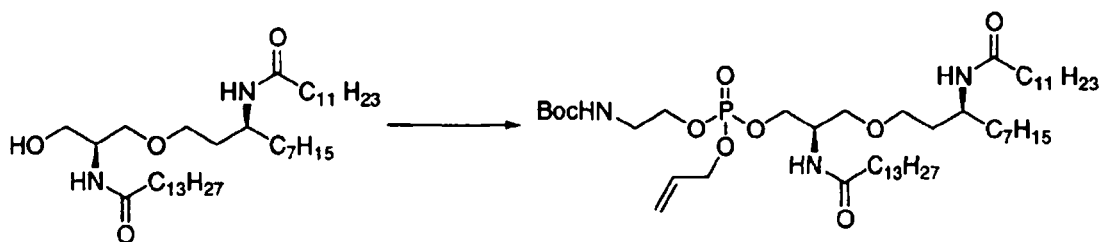
La amina (930 mg) se disolvió en THF (10 ml) y solución saturada de bicarbonato sódico (22 ml). Después de agitar durante 5 minutos se añadió gota a gota en el transcurso de 20 minutos, cloruro de lauroilo (0,712 ml). La mezcla final se extrajo con cloroformo y se secó, obteniendo 1,45 g.



La amida (1,11 g) se disolvió en metanol (14 ml) y se añadió ácido clorhídrico 4 N (8 ml). La mezcla se agitó durante 1 hora a 50°C y después se concentró. Se añadieron metanol (16 ml) y solución de hidróxido sódico al 40% (8 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora. Se enfrió, se extrajo con cloruro de metileno y el extracto se lavó con agua, se secó y se separó el disolvente, obteniendo 930 mg.

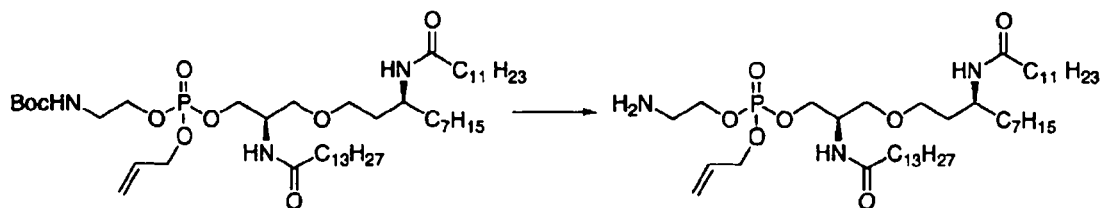


El amino alcohol se disolvió en THF (6 ml) y se añadió solución saturada de bicarbonato sódico (13 ml). Al cabo de 5 minutos la mezcla se enfrió a 0°C y se añadió cloruro de miristoilo (300 µl). Al cabo de 30 minutos la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 430 mg.

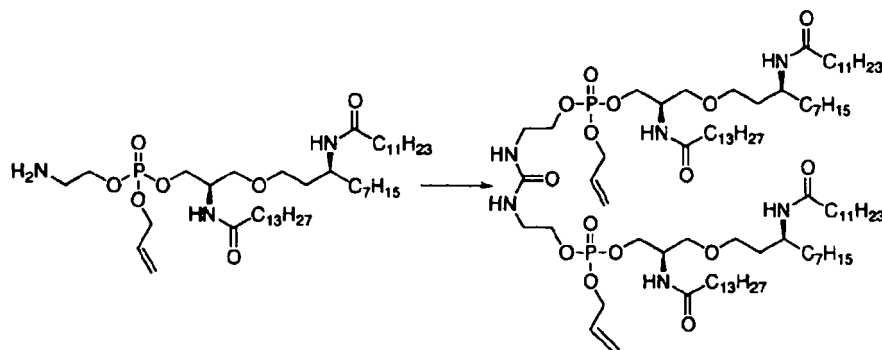


El alcohol (101,7 mg) se disolvió en cloruro de metileno enfriado con hielo, se añadió el reactivo de fosforilación 11 (90 µl), y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadió oxona enfriada con hielo (166,3 mg) y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La reacción se apagó con tiosulfato. La mezcla se trató del modo habitual y se sometió a cromatografía, obteniendo 174 mg (sin purificar).

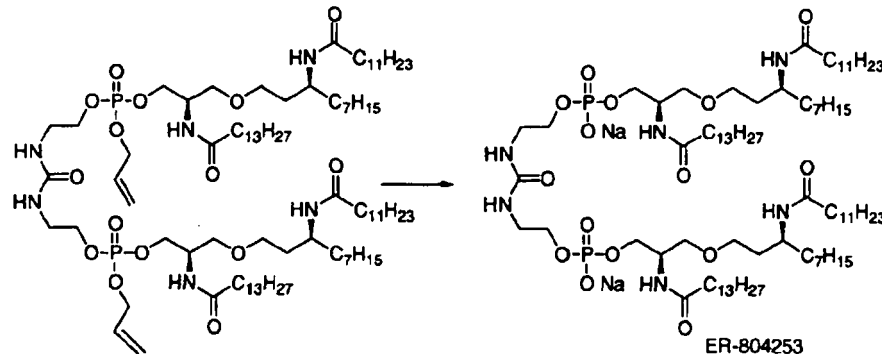
ES 2 315 511 T3



La amina protegida procedente de la reacción anterior se disolvió en cloruro de metileno enfriado con hielo (1 ml), se añadió ácido trifluoroacético (1 ml) y la mezcla se agitó durante 1 hora. Se separó el TFA y se purificó la mezcla obteniendo 106,7 mg.

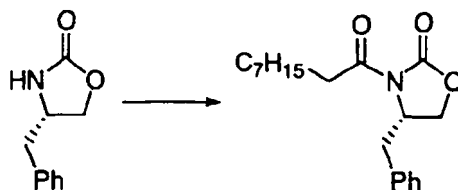


La amina se disolvió en cloruro de metileno (3 ml) y se añadió solución saturada de bicarbonato sódico (3 ml). La mezcla se enfrió en hielo y se añadió gota a gota fosgeno en tolueno (0,5 equivalentes). La mezcla se agitó durante 20 minutos y se trató, obteniendo 112,3 mg.

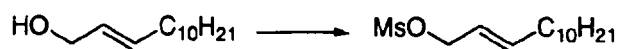


A una solución del fosfato bloqueado (40,5 mg) en cloroformo enfriado con hielo (2,6 ml), se añadió fenilsilano (10,7 mg) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio [0] (28,7 mg), y la mezcla se agitó durante 1 hora. La mezcla se sometió a cromatografía en una columna de DEAE obteniendo 27,7 mg de ER-804253.

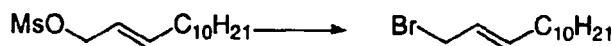
Preparación de ER-804130



A una solución de la amida (3 g) en THF (65 ml) a -78°C , se añadió un equivalente de butil-litio, seguido de una solución de cloruro de nonanoilo en THF (6 ml). Se añadió solución acuosa de cloruro amónico y la mezcla se trató del modo habitual, obteniendo 5,35 g.

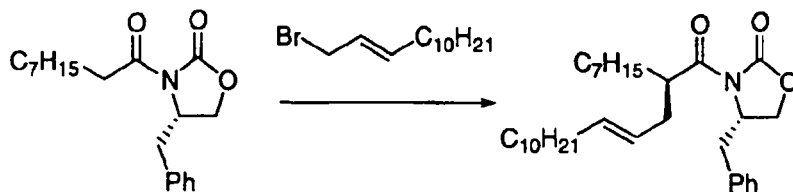


5 A una solución del alcohol (5 g) en cloruro de metileno enfriado con hielo (100 ml), se añadieron trietilamina (4,1 ml) y cloruro de mesilo (2,1 ml). La mezcla se agitó durante 4 horas y se trató del modo habitual obteniendo 6,99 g.



10

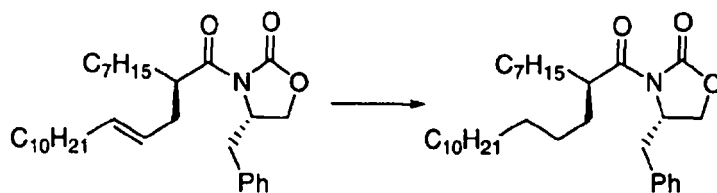
15 A la solución del mesilato (6,99 mg) en DMF enfriada con hielo (100 ml), se añadió bromuro potásico. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante cinco horas. Se trató del modo habitual obteniendo 1,63 g de un aceite claro.



25

30 Una solución de la amida (2,8 g) en THF (15 ml) se añadió a una solución de bis-trimetilsilamida sódica en THF (15 ml), a -78°C . Al cabo de 1 hora se añadió el bromuro, se dejó calentar la mezcla a temperatura ambiente, y se trató del modo habitual obteniendo 1,02 g.

30

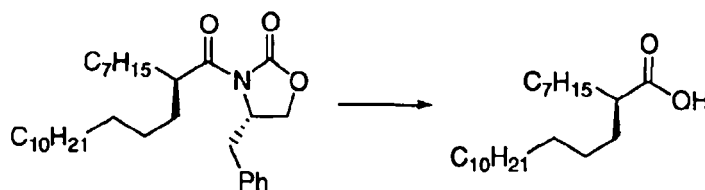


35

40

40 A una solución de la olefina (1,02 g) en EtOAc, se añadió paladio sobre carbón (125 mg) y la mezcla se colocó bajo hidrógeno. Al cabo de 4 horas, la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 1,0 g.

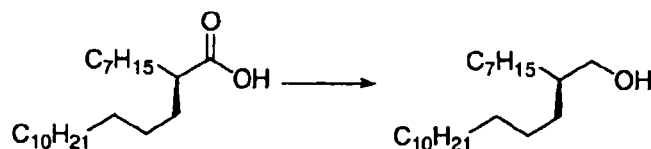
45



50

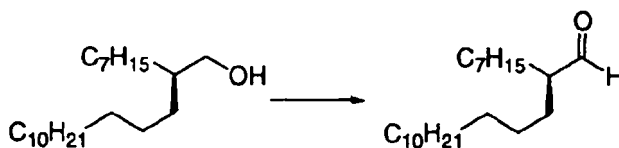
55 A una solución de la amida (1,0 g) en THF enfriado con hielo (20 ml), se añadieron agua, peróxido de hidrógeno e hidróxido de litio. El día siguiente, la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 590 mg de ácido.

55

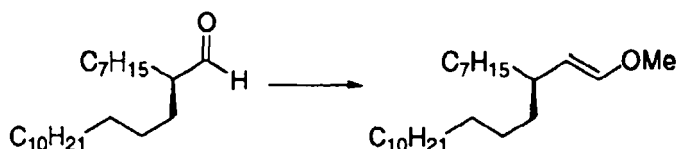


60

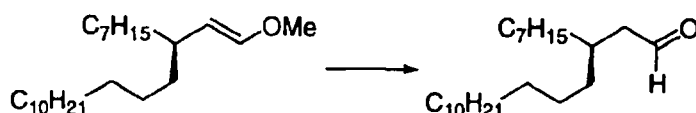
65 A una solución del ácido en THF enfriado con hielo (10 ml), se añadió complejo de diborano:THF y la mezcla se dejó calentar lentamente. Al cabo de siete horas, se añadió cuidadosamente ácido clorhídrico diluido y la mezcla se trató del modo habitual. El material crudo se disolvió en éter enfriado con hielo y se añadió solución de LAH (2 ml, 1 M). Al cabo de 5 minutos, la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 556 mg del alcohol.



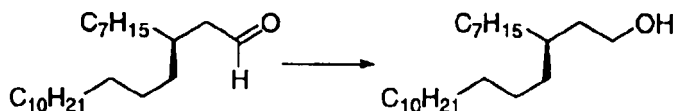
A una solución de cloruro de oxalilo (2,2 ml) en cloruro de metileno (10 ml), a -78°C , se añadió DMSO (1,1 ml) y al cabo de 2 minutos se añadió el alcohol (556 mg) en cloruro de metileno (5 ml). Después de 20 minutos, se añadió trietilamina (1 ml) y la mezcla se calentó a 0°C . La mezcla se diluyó con éter y se trató del modo habitual obteniendo 567 mg.



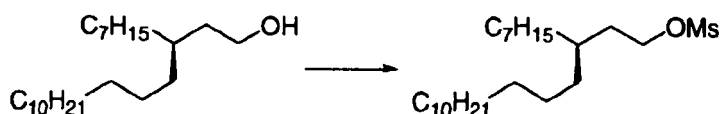
El reactivo de Wittig (679 mg) se suspendió en THF (10 ml) y se añadió solución de KHMDS (4 ml, 0,5 M). Al cabo de 20 minutos la mezcla se enfrió a -78°C y se añadió el aldehído (567 mg) en THF (5 ml). Después de 15 minutos la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 342 mg.



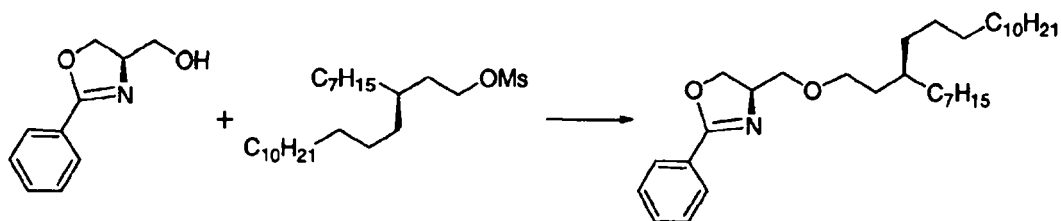
A una solución del éter del enol (342 mg) en acetonitrilo (3,5 ml) y agua (0,15 ml), se añadió ácido yodhídrico. Después de 4 horas la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 325 mg.



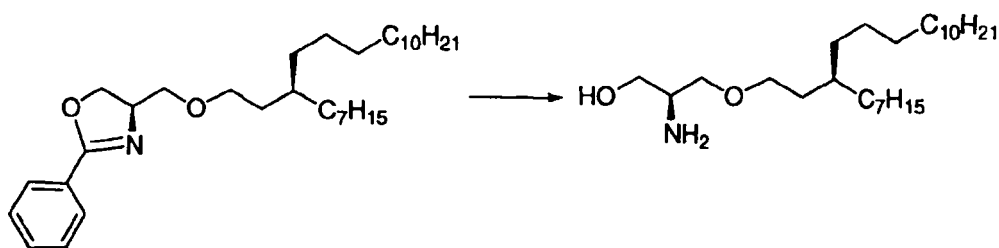
A una solución del aldehído (325 mg) en metanol (10 ml), se añadió borohidruro de sodio (38 mg). Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se trató del modo habitual obteniendo 303 mg del alcohol.



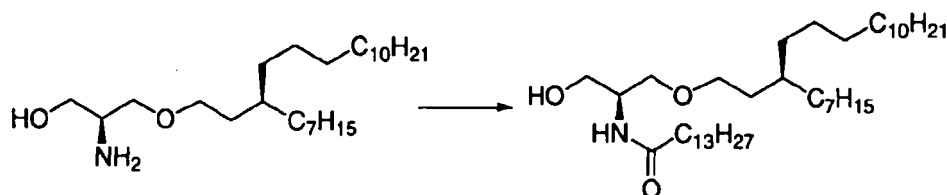
A una solución del alcohol (303 mg) en cloruro de metileno (10 ml), enfriada con hielo, se añadió trietilamina (150 μl) y cloruro de mesilo (76 μl). Al cabo de 4 horas la mezcla de reacción se trató del modo habitual obteniendo 352 mg.



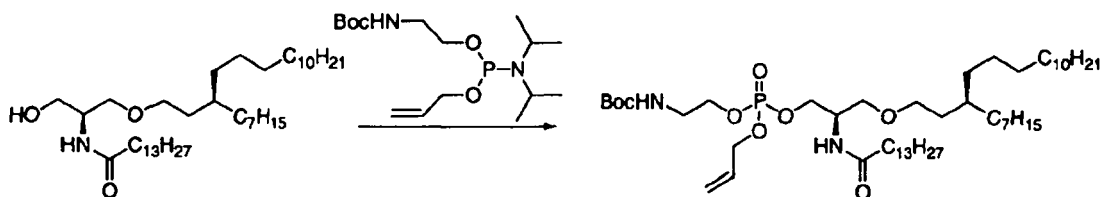
A una solución de la oxazolina (1 ml) en THF enfriado con hielo (5 ml), se añadió solución de t-butoxido de potasio (2,2 ml, 1 M). Al cabo de 30 minutos se añadió el mesilato en el seno de THF (5 ml) y la mezcla se agitó durante 8 horas. El tratamiento habitual proporcionó 318,5 mg.



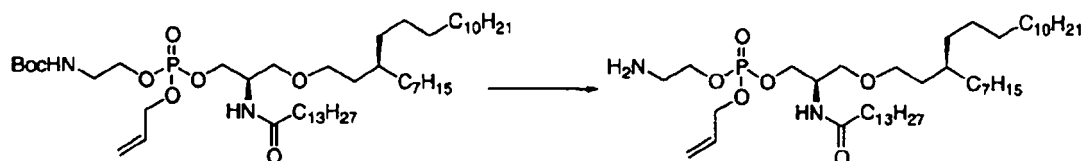
Una solución de la oxazolina en metanol (8 ml) y ácido clorhídrico (4 ml, 4 M), se calentó a 50°C durante 90 minutos. Se añadió metanol adicional y se separó el disolvente. El residuo se disolvió en metanol (8 ml) y solución de hidróxido sódico (4 ml), y se calentó brevemente a 50°C. Se enfrió la mezcla y se extrajo con cloroformo. El tratamiento habitual proporcionó 114 mg.



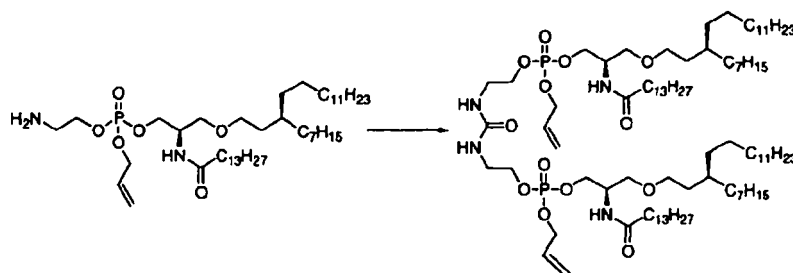
A una solución de la amina (114 mg) en THF (2 ml) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (2 ml), se añadió el cloruro de ácido. Al cabo de 30 minutos se añadió ácido clorhídrico adicional. Después de 30 minutos, la reacción se trató del modo habitual obteniendo 146 mg.



A una solución de tetrazol (48 mg), y el reactivo de fosforilación (122 mg) en el seno de cloruro de metileno enfriado con hielo (2 ml), se añadió el alcohol (146 mg). Se añadió oxona (230 mg) en agua (1 ml) y THF (2 ml). Después de 90 minutos, se usó tiosulfato para apagar la reacción. El tratamiento habitual proporcionó 140 mg.

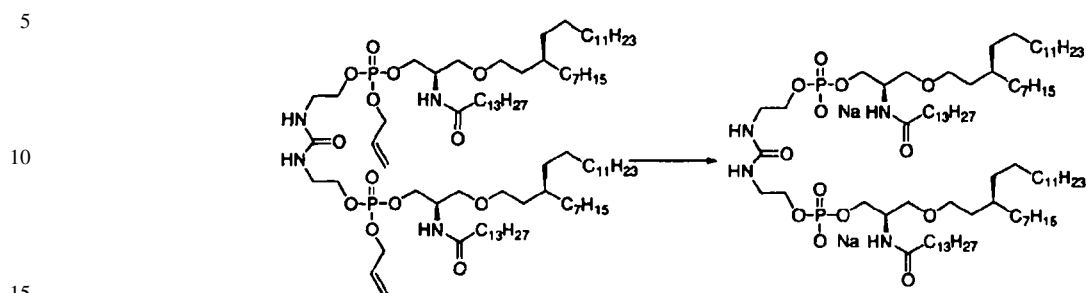


A una solución del sustrato en cloruro de metileno enfriado con hielo, se añadió trietilsilano (370 μ l) y ácido trifluoroacético (110 μ l). Después de 5 minutos, los compuestos volátiles fueron separados, obteniendo 148 mg.



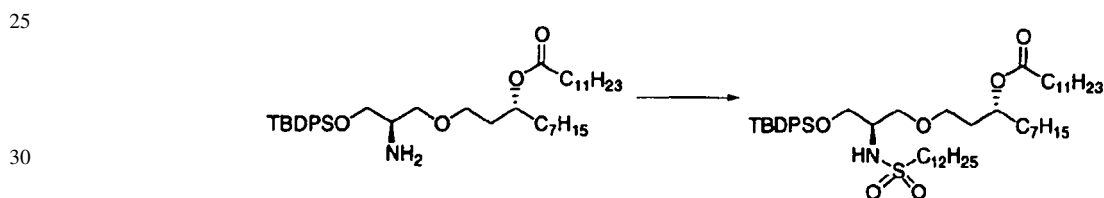
ES 2 315 511 T3

A una solución de la amina (66,9 mg) en cloruro de metileno enfriado con hielo (0,8 ml), se añadió solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (0,8 ml) y solución de fosgeno (20 μ l, 1,93 M). Después de una hora, se añadió fosgeno adicional (10 μ l). Al cabo de 30 minutos el tratamiento habitual proporcionó 47,7 mg.

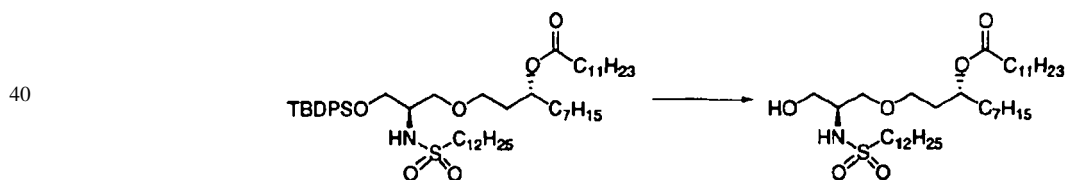


A una solución de fenilsilano (15 μ l) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio [0] (24,8 mg) en cloroformo enfriado con hielo, bajo atmósfera inerte, se añadió el sustrato. Después de 5 minutos la mezcla se aplicó a una columna de DEAE y se sometió a cromatografía obteniendo 31 mg de ER-804130.

Preparación de ER-804558



A una solución de la amina (325 mg) en cloruro de metileno, se añadió trietilamina (321 μ l) y cloruro de 1-dodecanosulfonilo. Después de 3 horas el tratamiento habitual proporcionó 384 mg.

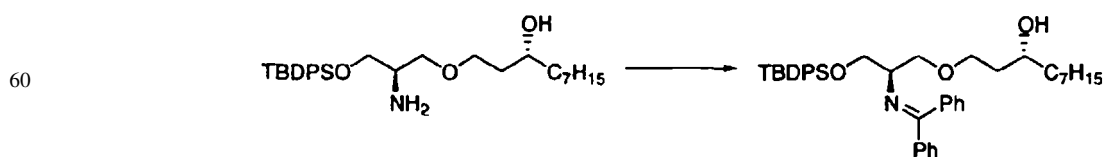


A una solución del alcohol protegido (384 mg) en THF (4 ml), se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (123 mg) y ácido acético (29 μ l). Después de 2 horas, el tratamiento habitual proporcionó 180 mg.

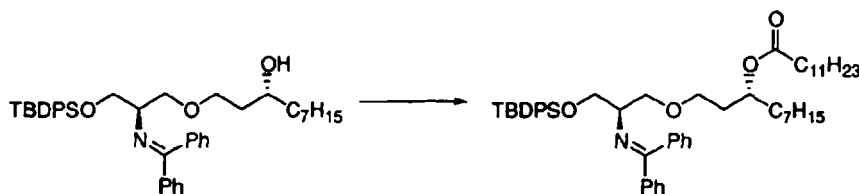
El resto de la síntesis fue completado según se ha descrito anteriormente para otros compuestos de la presente invención, es decir, fosforilación, desbloqueo, acoplamiento con fosgeno y desprotección con fenilsilano y paladio.

Preparación de ER-804442

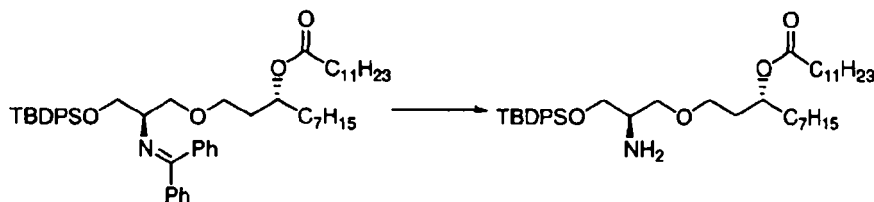
El diol amina fue monoprotegido como su éter t-butil-difenilsilílico según se ha descrito anteriormente.



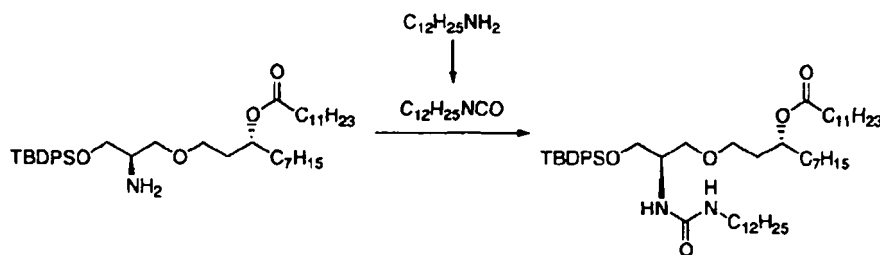
La amina (2,6 g) y benzofenona-imina (1,1 ml) se mezclaron y se calentaron a 40°C durante 4 días obteniendo después de cromatografía 3,3 g.



A una solución de la imina (3,3 g) en cloruro de metileno enfriado con hielo, se añadieron ácido láurico (1,5 g), EDC (1,7 g) y DMAP (155 mg). El día siguiente, la reacción se trató del modo habitual obteniendo 3,15 g.



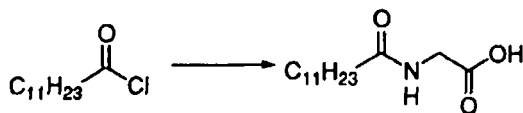
A una solución de la imina (3,14 g) en éter, se añadió solución acuosa de ácido clorhídrico 1 N. El día siguiente la reacción se trató del modo habitual obteniendo 2,81 g.



A una solución de cloroformiato de triclorometilo (12 μ l) en cloruro de metileno enfriado con hielo (250 μ l), se añadió dodecilamina (18 μ l) y diisopropiletilamina (27 μ l). Después de 30 minutos se separó el disolvente. El residuo se disolvió en cloruro de metileno enfriado con hielo, a lo que se añadió la amina (55,6 mg) y diisopropiletilamina adicional (13 μ l). Después de 2 horas el tratamiento habitual proporcionó, después de cromatografía, 60,9 mg.

Este producto fue desprotegido con fluoruro, fosforilado, desprotegido con TFA, dimerizado con fosgeno y desbloqueado con fenilsilano y paladio, según se ha descrito anteriormente, obteniendo el ER-804442.

Preparación de ER-804221

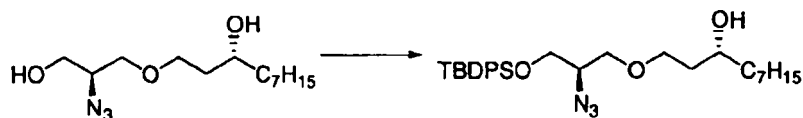


A una solución enfriada con hielo de glicina (8,26 g) en solución acuosa de hidróxido sódico (4,4 g en 60 ml), se añadió cloruro de lauroilo (21,8 g). Después de 1 hora se añadió ácido y la mezcla se trató del modo habitual. Por recristalización en acetato de etilo se obtuvieron 9,7 g.

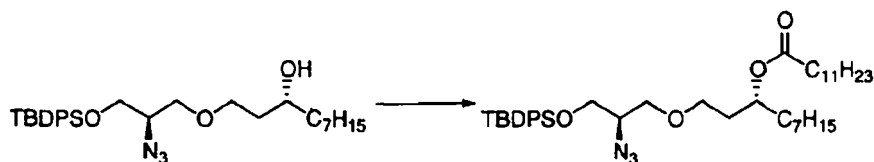


A una solución enfriada con hielo de la amina (1,4 g) en metanol, se añadió azida tríflica (20 mg). El día siguiente, se añadió azida adicional. Después de 2 horas, la mezcla de reacción se trató del modo habitual obteniendo, después de cromatografía, 1,14 g.

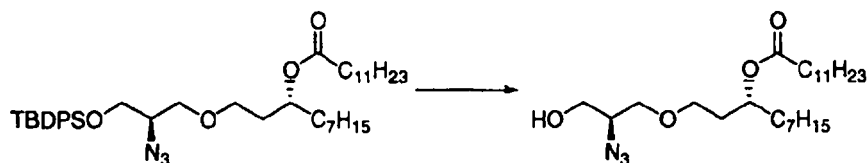
ES 2 315 511 T3



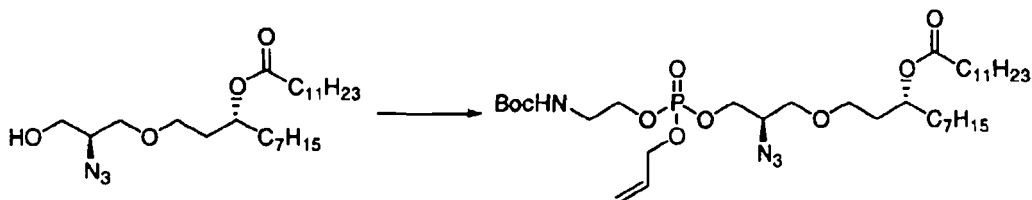
A una solución del alcohol (1,14 g) en cloruro de metileno, se añadieron cloruro de t-butil-difenilsililo (1,09 ml), trietilamina (1,8 ml) y DMAP (50 mg). Después de 3 horas el tratamiento habitual dio 1,4 g.



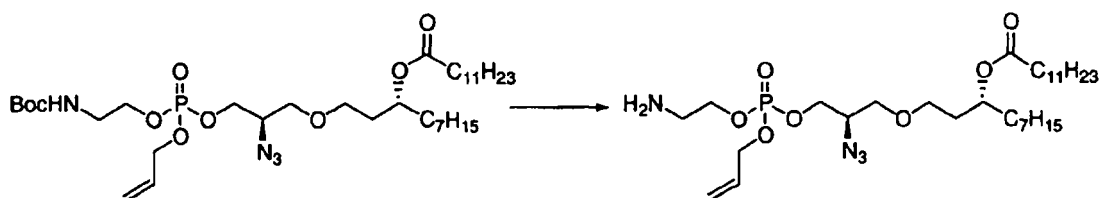
A una solución del alcohol (1,4 g) en cloruro de metileno enfriado con hielo, se añadieron ácido láurico (826 mg), EDC (1,05 g) y DMAP (33 mg). El siguiente día, el tratamiento habitual dio, después de cromatografía, 778 mg.



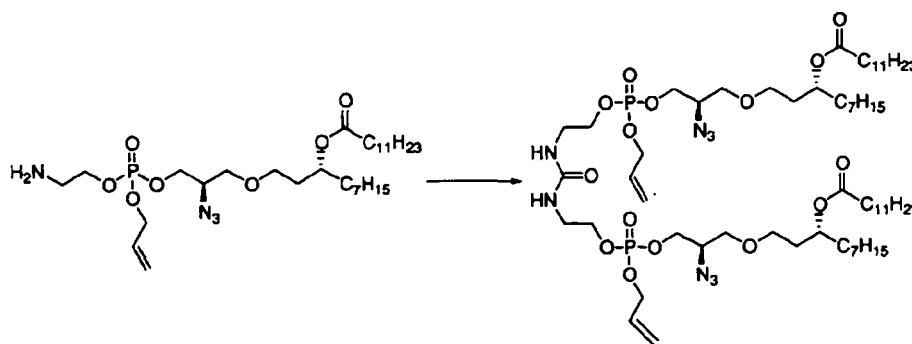
A una solución de la azida (778 mg) en THF, se añadieron ácido acético (77 μ l) y TBAF (323 mg). El día siguiente, el tratamiento habitual dio, después de cromatografía, 428 mg.



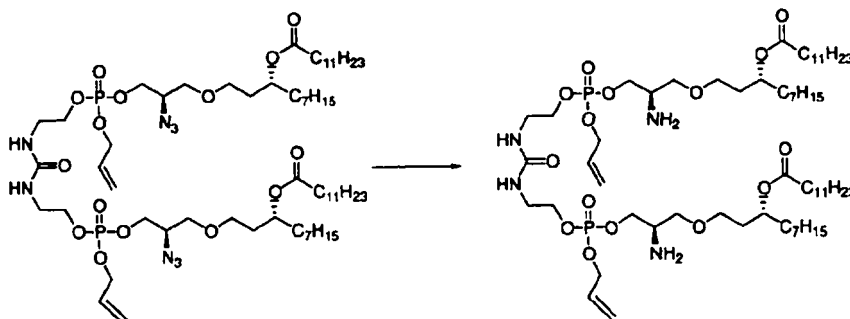
A una solución de la azida (460 mg) en cloruro de metileno, se añadió tetrazol (165 mg) y el reactivo de fosforilación (390 mg) y al cabo de 30 minutos, oxona en agua (722 mg en 3 ml). La reacción se apagó con tiosulfato. El tratamiento habitual proporcionó, después de cromatografía, 392 mg.



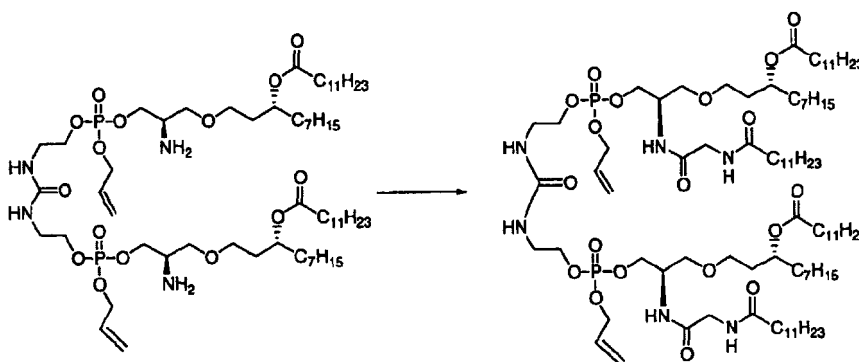
La amina protegida (460 mg) se disolvió en cloruro de metileno y ácido trifluoroacético (304 μ l) y trietilsilano (308 μ l). Después de 1,5 horas, el tratamiento habitual proporcionó 392 mg.



A una solución enfriada con hielo de la amina en el seno de cloruro de metileno (5,5 ml), se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio (5,5 ml) y fosgeno (164 μ l de una solución 1,93 M en tolueno). Después de 15 minutos, el tratamiento habitual, después de cromatografía, dio 342 mg.



A una solución enfriada con hielo de la azida (187 mg) en cloruro de metileno, se añadió el reactivo de estaño (1,5 ml) que se había preparado según se describe en el documento U.S. 5.756.718. Después de 30 minutos, la mezcla se sometió a cromatografía obteniendo 187 mg.



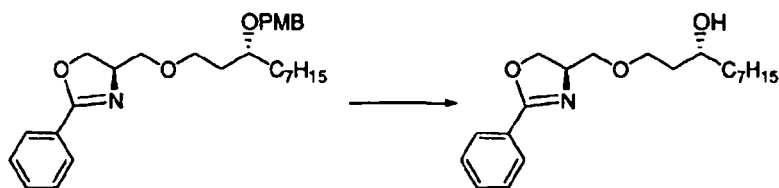
A una solución enfriada con hielo de la urea (55 mg) en el seno de cloruro de metileno, se añadieron el ácido (59 mg) (preparado como anteriormente) y EDC (44 mg). El día siguiente se añadieron EDC (5 mg) y ácido (5 mg) adicionales. Después de 2 horas, el tratamiento normal proporcionó 45,7 mg.

La separación normal de los grupos de protección con fenilsilano y paladio dio el compuesto ER-804221.

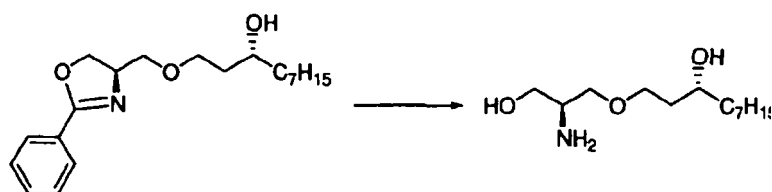
El compuesto ER-804222 se preparó de un modo similar excepto que se usó el producto de condensación entre cloruro de lauroilo y glicina, ácido 15-metilmirístico.

ES 2 315 511 T3

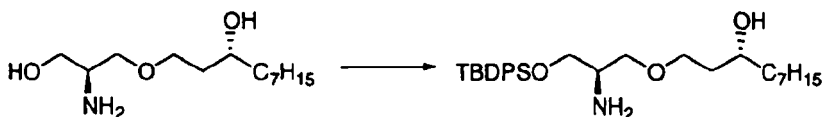
Preparación de ER-804281



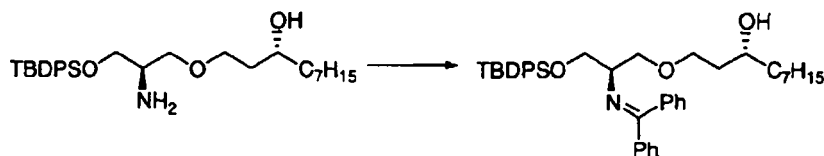
A una solución enfriada con hielo del alcohol protegido (8,3 g) en una mezcla de acetonitrilo:agua, se añadió CAN (41,4 g). Después de 1 hora, el tratamiento habitual proporcionó 5.7 g.



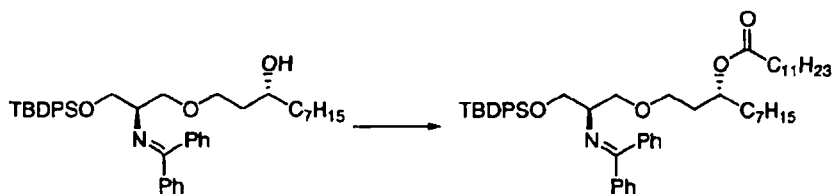
Una solución del alcohol (5,63 g) en HCl 4 N se calentó a reflujo durante 1 hora, se enfrió, se neutralizó con hidróxido sódico y se trató del modo habitual, obteniendo 2,1 g.



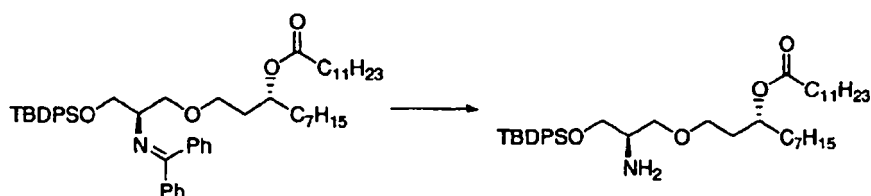
A una solución enfriada con hielo del alcohol (2,2 g) en el seno de cloruro de metileno, se añadió imidazol (0,7 g) y cloruro de t-butildifenilsililo en 15 ml de cloruro de metileno. El día siguiente, el tratamiento habitual proporcionó 1,54 g.



A una solución del alcohol (1,93 g) en cloruro de metileno (40 ml) se añadió benzofenona-imina (0,8 ml). Después de 1 día, la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. El tratamiento habitual dio 1,67 g.

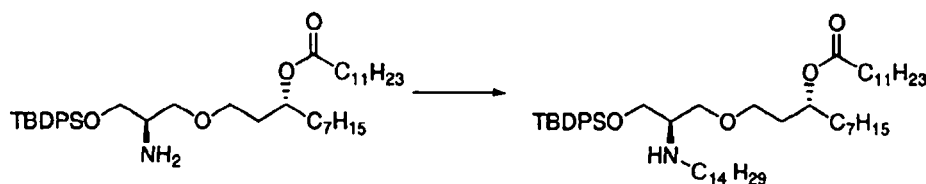


A una solución enfriada con hielo del alcohol (1,67 g) en el seno de cloruro de metileno, se añadieron DMAP (159 mg), EDC (0,99 g) y ácido láurico (1,04 g). Después de un día, el tratamiento habitual dio un rendimiento de 74%.

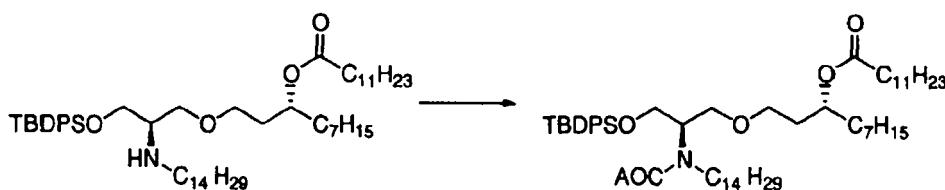


ES 2 315 511 T3

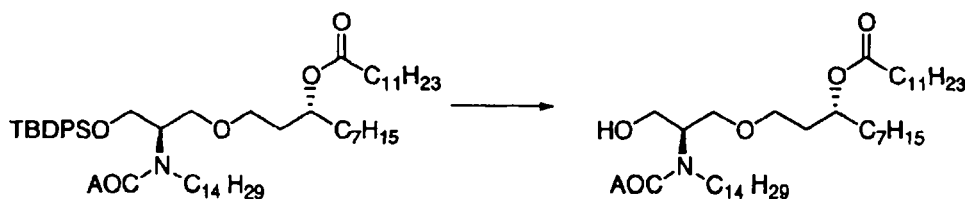
A una solución enfriada con hielo de la imina (2,9 g) en éter (50 ml), se añadió HCl 1 N (50 ml). El día siguiente, el tratamiento habitual dio 2,09 g.



A una solución de la amina (1,24 g) en el seno de dicloroetano, se añadieron cianoborohidruro de sodio (178 mg) y tetradecanal (411 mg). El día siguiente, el tratamiento habitual dio 1,5 g.



A una solución enfriada con hielo de la amina (221 mg) en dioxano, se añadieron clorofornio de alilo (40 mg) y 308 μ l de solución de NaOH 1 N. Después de 2 horas, el tratamiento habitual dio 200 mg.



A una solución enfriada con hielo del alcohol protegido (365 mg) en el seno de THF se añadieron TBAF (1924 μ l) y ácido acético (122 μ l). El día siguiente, el tratamiento habitual dio 271 mg.

Este material fue fosforilado, desbloqueado con TFA, dimerizado con fosgeno y se separaron los grupos alilo de protección con fenilsilano y paladio según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804281.

Preparación de ER-804339

ER-804281 $\rightarrow$ ER-804339

A una solución enfriada con hielo de ER-804382 (7 mg) en el seno de cloruro de metileno, se añadieron trietilamina (5 μ l), DMAP (0,6 mg) y cloruro de acetilo (1,8 μ l). Después de 4 días, el tratamiento habitual dio 1,1 mg.

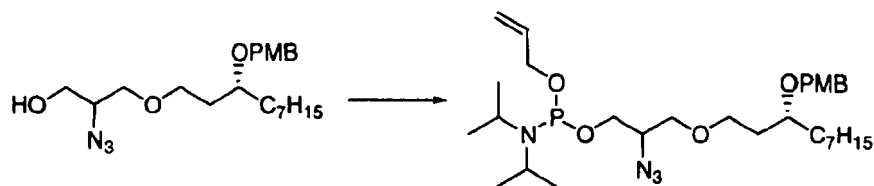
Preparación de ER-804674

ER-804281 $\rightarrow$ ER-804674

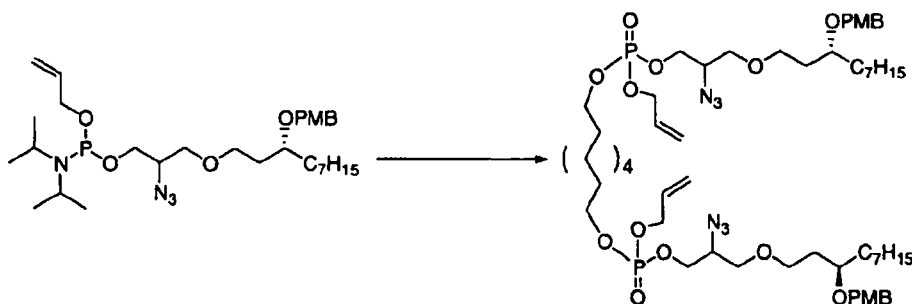
A una solución de ER-804281 (12,7 mg) en el seno de THF (1,0 ml) se añadieron yoduro de metilo (9,2 mg) y bicarbonato sódico (6,8 mg). La mezcla se agitó durante 5 días y se añadieron bicarbonato de sodio (14 mg) y yoduro de metilo adicional (8 ml). Después de 3 días más, se añadieron bicarbonato (28 mg) y yoduro de metilo (16 μ l), adicionales. Después de un período adicional de 6 días, la mezcla se trató obteniendo 9,1 mg de producto.

ES 2 315 511 T3

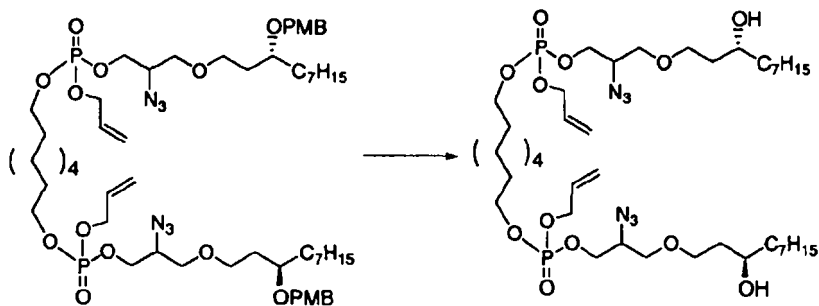
Preparación de ER-804596



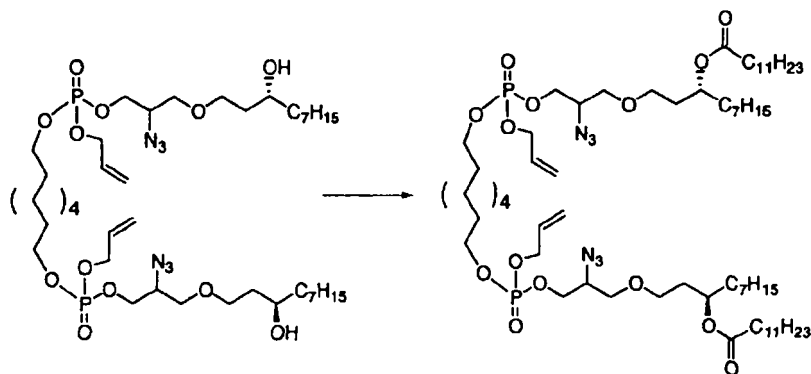
15 A una solución del alcohol (393 mg) en cloruro de metileno (2 ml), se añadieron diisopropilamina (210 μ l), tetrazol (105 mg) y reactivo de fosforilación (como se ha descrito anteriormente) (488 mg). Después de 2 1/5 horas, el tratamiento habitual proporcionó el producto deseado.



30 A una solución del diol (73 mg) en el seno de acetonitrilo, se añadieron tetrazol (175 mg) y la azida (1 equivalente). Al cabo de 3 horas, se enfrió la mezcla y se añadió ozono (1229 mg). El día siguiente, el tratamiento habitual proporcionó el producto deseado.



50 A una solución enfriada con hielo del alcohol protegido (92,9 mg), en una mezcla de acetonitrilo:agua (6 ml:1,5 ml), se añadió CAN (358 mg). Después de 1 hora, el tratamiento habitual proporcionó 68,5 mg.

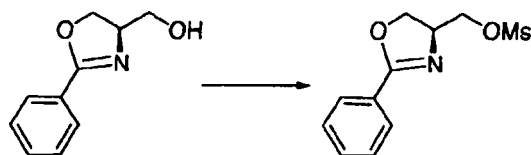


A una solución enfriada con hielo del diol (68,5 mg) en cloruro de metileno, se añadieron ácido láurico (76,5 mg), DMAP (4,7 mg) y EDC (73 mg). El día siguiente, el tratamiento habitual proporcionó 76,5 mg.

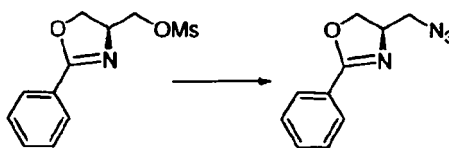
ES 2 315 511 T3

Las azidas fueron reducidas usando el reactivo de estaño descrito anteriormente. La diamina se aciló con cloruro de dodecanoilo y los grupos de protección se separaron con fenilsilano y paladio según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804596.

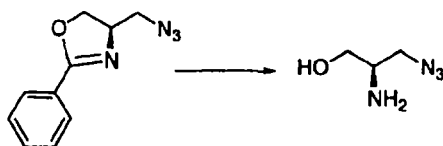
Preparación de ER-804732



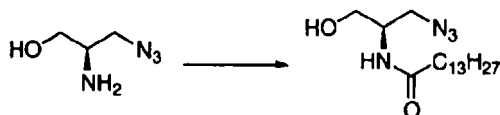
El alcohol (7,04 g) se disolvió en cloruro de metileno (300 ml) con trietilamina (11,13 ml) y después se enfrió a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (3,69 ml) después de cuyo tiempo la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El tratamiento habitual proporcionó 5,551 g.



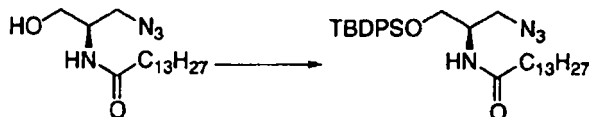
El compuesto mesilado (1,114 g) se disolvió en DMF (30 ml) seguido de azida de sodio (0,9337 g). La mezcla de reacción se calentó a 57°C, se agitó durante 16 horas y luego a 104°C durante un período adicional de 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente la mezcla se trató del modo habitual obteniéndose 0,466 g.



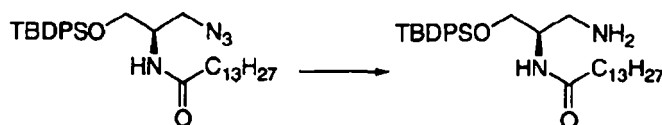
El aminoalcohol protegido (0,466 g) se hidrolizó usando HCl 4 N (15 ml) a 107°C durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y se extrajo con éter etílico, se secó se concentró y se usó en la reacción siguiente.



El aminoalcohol crudo se disolvió en THF (5 ml) con solución saturada de bicarbonato sódico (6 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota cloruro de miristoilo (0,79 ml) al cabo de cuyo tiempo la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se trató usando el método habitual y se obtuvieron 0,751 g.



El alcohol (0,185 g) se disolvió en DMF (3,0 ml) con imidazol (0,077 g) y cloruro de terc-butildifenilsililo (0,197 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas después de cuyo tiempo el tratamiento habitual dio 0,320 g.

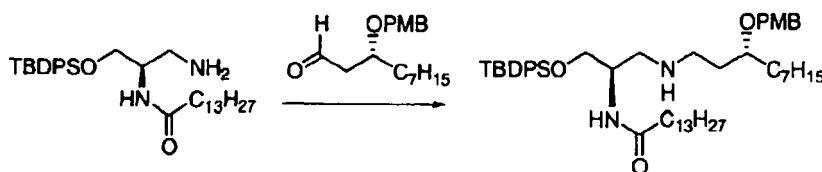


ES 2 315 511 T3

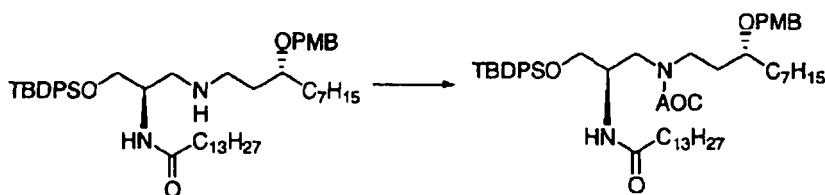
La azida (0,975 g) se disolvió en metanol (20 ml) con paladio al 10% sobre carbón (0,180 g). La mezcla se agitó bajo atmósfera de hidrógeno gaseoso a presión atmosférica durante 2 horas, después de cuyo tiempo se evacuó el gas y la mezcla se filtró sobre Celita 545 y se concentró. Por purificación, usando el método habitual, se obtuvieron 0,873 g.



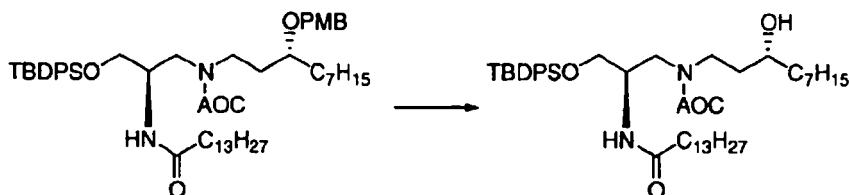
Se añadió gota a gota DMSO (1,5 ml) a cloruro de oxalilo (0,92 ml) en el seno de cloruro de metileno (30 ml), a -78°C . Después de agitar durante 15 minutos, el alcohol (1,727 g) en cloruro de metileno (30 ml), se añadió gota a gota y se agitó durante un período adicional de 30 minutos. Se añadió gota a gota trietilamina (4,90 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 0°C . La reacción se apagó usando solución saturada de cloruro amónico. Por purificación del producto crudo usando cromatografía sobre gel de sílice con acetato de etilo al 20% en hexanos, se obtuvieron 1,653 g.



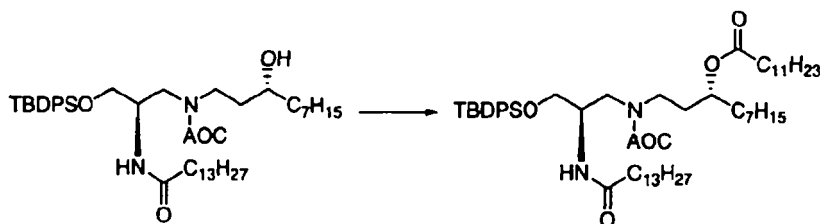
La amina primaria (0,135 g) y aldehído (0,077 g) se disolvieron en 1,2-dicloroetano (5 ml) seguido por la adición de cianoborohidruro de sodio (0,032 g). La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas después de cuyo tiempo se añadió ácido acético y la mezcla de reacción se trató del modo habitual obteniendo 0,103 g.



La amina secundaria se disolvió en 1,4-dioxano (15 ml) y se enfrió a 0°C seguido de la adición lenta de hidróxido sódico 1 M (3,0 ml). Después de agitar durante 10 minutos se añadió gota a gota cloroformiato de alilo (0,236 ml) al cabo de cuyo tiempo la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. El tratamiento del modo habitual proporcionó 0,613 g.

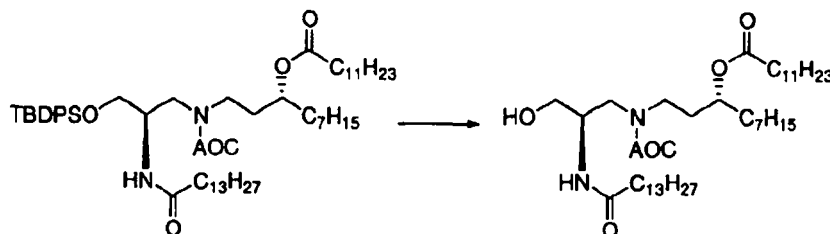


El éter para-metoxibencílico (0,613 g) se disolvió en una mezcla de acetonitrilo:agua (4:1) (15 ml) enfriada a 0°C y luego se añadió CAN (1,525 g). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego se trató del modo habitual obteniendo 0,357 g.



ES 2 315 511 T3

El alcohol (0,357 g) se disolvió en cloruro de metileno (5 ml) con ácido láurico (0,184 g) y EDC (0,175 g), y se enfrió a 0°C. Se añadió 4-dimetilaminopiridina (0,012 g) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El tratamiento del modo habitual proporcionó 0,436 g.



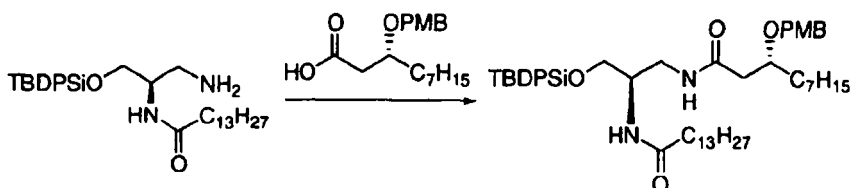
El alcohol protegido con sililo (0,211 g) se disolvió en THF (5 ml) con ácido acético (0,03 ml). Se añadió en una porción fluoruro de tetrabutilamonio (0,115 g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. El tratamiento normal dio 0,150 g.

Este material se fosforiló, se desbloqueó con TFA, se dimerizó con fosgeno y se separaron los grupos alilo con fenilsilano y paladio según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804732.

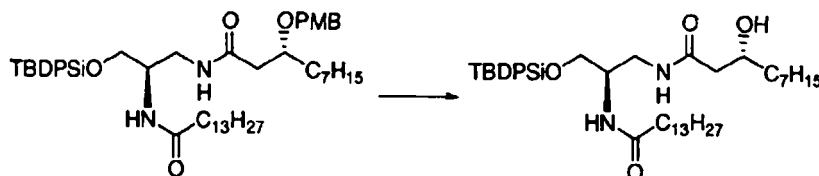
Preparación de ER-804680



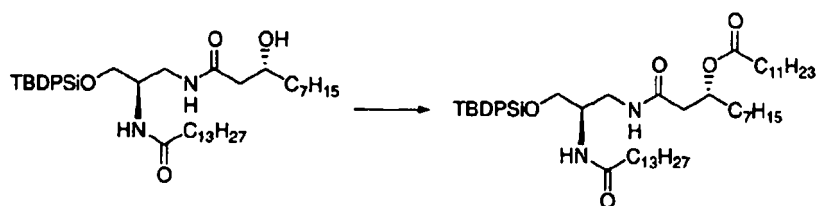
El aldehído (1,54 g) se disolvió en THF (28 ml) y se enfrió a 0°C, después de cuyo tiempo se añadieron 2-metil-2-buteno (14 ml) y alcohol terc-butílico (28 ml). Se añadió a la mezcla anterior una suspensión agitada de cloruro sódico (3,70 g) y trihidrógenofosfato sódico (4,09 g) en agua (42,7 ml) y se agitó a 0°C durante 1,5 horas. Completada la reacción se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con solución al 10% de bisulfito sódico y salmuera, se secó, se concentró y se sometió a cromatografía en gel de sílice obteniendo 1,55 g.



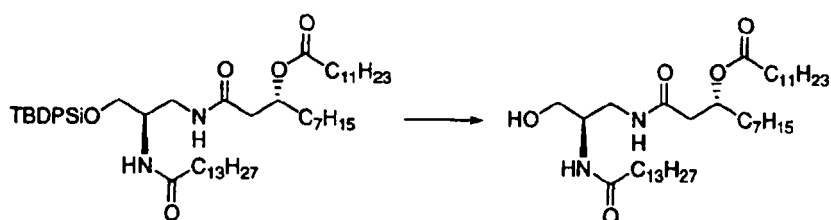
La amina (0,553 g) y ácido (0,381 g) se mezclaron en cloruro de metileno (8 ml) y se enfrió a 0°C, después de cuyo tiempo se añadió EDC y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. El tratamiento habitual proporcionó 0,567 g.



El éter metoxibencílico (0,567 g) se disolvió en una mezcla de acetonitrilo:agua de relación 1 a 1 (16 ml) con cloruro de metileno (8 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió CAN (1,53 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora, después de cuyo tiempo se trató del modo habitual obteniendo el alcohol crudo.



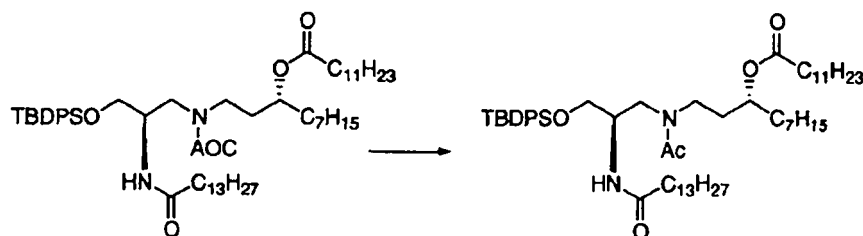
El alcohol crudo anterior se disolvió en cloruro de metileno (15 ml) con ácido láurico (0,280 g) y 4-dimetilaminopiridina (0,017 g). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió EDC (0,267 g) en una porción, después de cuyo tiempo la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. Los procedimientos normales de tratamiento proporcionaron 0,622 g.



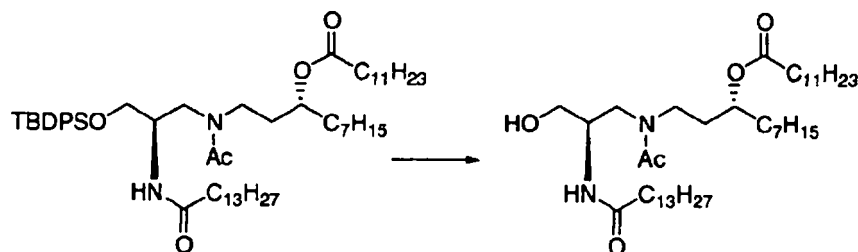
El éter silílico (0,563 g) se disolvió en THF (10 ml) con ácido acético (0,087 ml). Se añadió fluoruro de terc-butilamonio (0,330 g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. El tratamiento del modo habitual proporcionó 0,384 g.

Este material fue fosforilado, desbloqueado con TFA, dimerizado con fosgeno y se separaron los grupos alilo de protección con fenilsilano y paladio según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804780.

Preparación de ER-804679



La amina secundaria protegida (0,071 g) se disolvió en cloroformo desgasificado (3 ml) con fenilsilano (0,017 ml) y anhídrido acético (0,014 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C seguido de la adición de tetrakis(trifenilfosfina) paladio (0) (0,002 g). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se dejó agitar durante 30 minutos. Completada la reacción, se diluyó con cloruro de metileno, se lavó con agua, se secó, se concentró y se sometió a cromatografía, obteniendo 0,068 g.

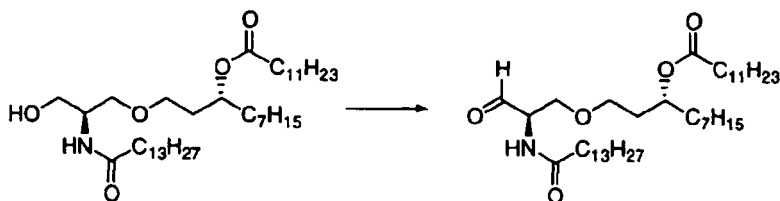


El éter silílico fue desprotegido en el seno de THF (5 ml) con ácido acético (0,025 ml) con la adición de fluoruro de terc-butilamonio. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas la mezcla de reacción se trató del modo habitual obteniendo 0,120 g.

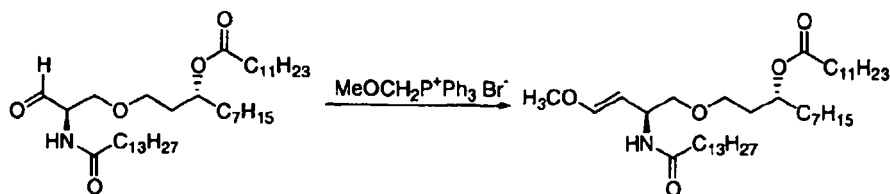
Este material fue fosforilado, desbloqueado con TFA, dimerizado con fosgeno y los grupos de protección alilo separados con fenilsilano y paladio según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804679.

ES 2 315 511 T3

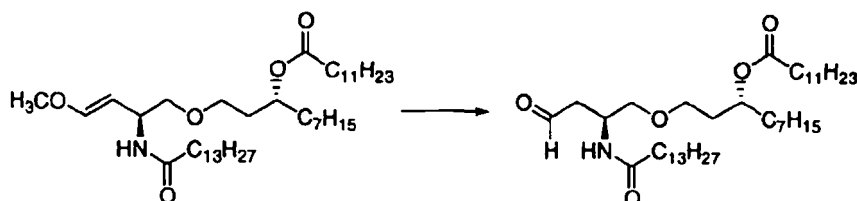
Preparación de ER-804764



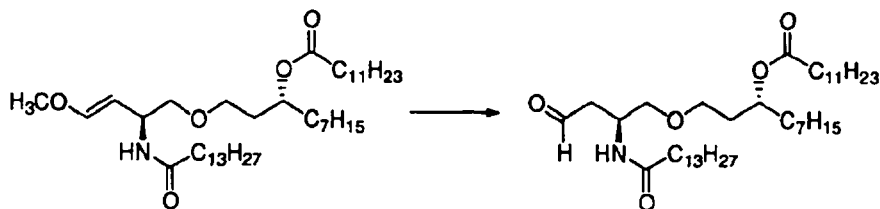
15 Se añadió gota a gota DMSO (0,33 ml) a cloruro de oxalilo (0,203 ml) en cloruro de metileno (10 ml) a -78°C . Después de agitar durante 15 minutos, se añadió gota a gota el alcohol (1,993 g) en el cloruro de metileno (3 ml) y se agitó durante un período adicional de 30 minutos. Se añadió gota a gota trietilamina (1,08 ml), la mezcla de reacción se calentó a 0°C y la reacción se apagó usando solución saturada de cloruro amónico. La purificación del producto crudo utilizando cromatografía en gel de sílice con acetato de etilo al 20% en hexanos, dio 0,743 g.



30 Se añadió gota a gota n-butil-litio 1,6 M en hexanos (1,5 ml) a la sal de fosfonio (0,797 g) en THF (10 ml) a 0°C . Después de agitar durante 30 minutos se añadió gota a gota el aldehído (0,734 g) en el seno de THF (15 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante una hora, la mezcla de reacción se trató del modo habitual obteniendo 0,193 g.



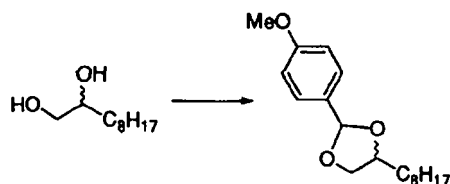
45 El éter de enol (0,193 g) se hidrolizó con yoduro de hidrógeno al 57% (0,114 l) en acetonitrilo (2 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas la reacción se apagó con solución saturada de bicarbonato sódico, se extrajo con cloruro de metileno y se secó, obteniendo 0,211 g de aldehído crudo.



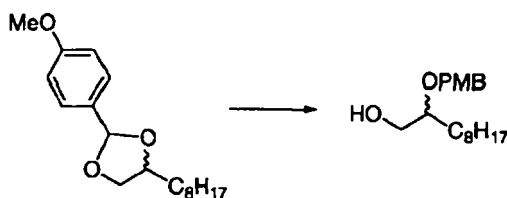
60 El aldehído crudo (0,211 g) se disolvió en metanol (3 ml) y se añadió borohidruro de sodio (0,033 g) a 0°C . Después de agitar durante 30 minutos la mezcla de reacción se diluyó con agua, se extrajo con cloruro de metileno, se secó, se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, obteniendo 0,148 g.

65 Este material se fosforiló, se desbloqueó con TFA, se dimerizó con fosgeno y se separaron los grupos alilo protectores con fenilsilano y paladio, según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804764.

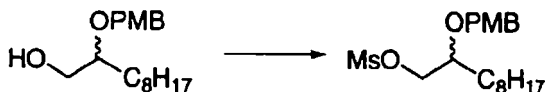
Preparación de ER-804772



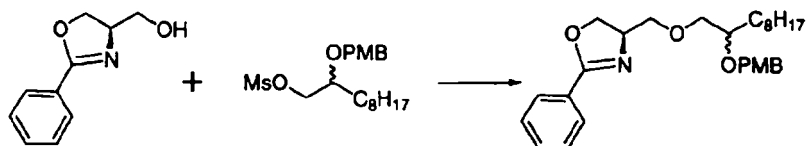
El diol de que se dispone en el comercio (1,486 g) se mezcló con el acetal (1,864 g) y ácido para-toluenosulfónico (0,195 g) en DMF (10 ml). Después de agitar durante 20 horas a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno, la reacción se apagó con solución saturada de bicarbonato sódico, se extrajo con cloruro de metileno, se secó y se concentró en alto vacío. La cromatografía en gel de sílice del producto crudo resultante usando acetato de etilo al 10% en hexanos, dio 2,084 g.



El acetal (2,084 g) se enfrió a -78°C bajo atmósfera de nitrógeno, en cloruro de metileno (30 ml), seguido de la adición gota a gota de DIBAL 1,0 M en hexanos (14,3 ml). Después de añadir DIBAL adicional (14 ml), la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora, se calentó a temperatura ambiente y la reacción se apagó con tartrato sódico potásico. El tratamiento normal proporcionó 2,1 g.



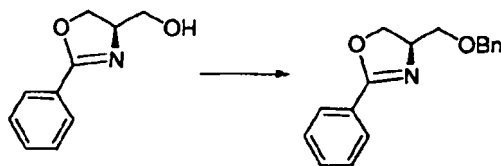
El alcohol (1,286 g) se mezcló con trietilamina (0,883 g) en cloruro de metileno (15 ml) y se enfrió a 0°C . Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (0,575 g) seguido de agitación durante 20 minutos a 0°C y temperatura ambiente, durante 2 horas. El tratamiento normal dio 1,496 g.



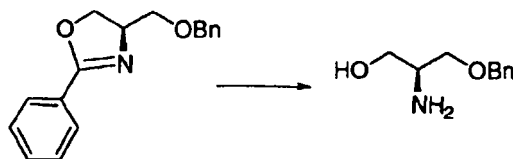
El alcohol (1,495 g) en DMF (10 ml) se añadió gota a gota a una suspensión agitada de hidruro de sodio al 60% lavado (0,257 g), en DMF (20 ml) a 0°C . Después de agitar durante 3 horas se añadió gota a gota el mesilato (0,925 g) en DMF (10 ml). Después de agitar durante un período adicional de 3 días, la reacción se apagó y se trató del modo habitual obteniendo 0,905 g.

Como con los ejemplos proporcionados anteriormente, el grupo protector para-metoxibencilo fue hidrolizado con CAN, el aminoalcohol protegido se hidrolizó usando HCl acuoso y luego KOH, acilación de la amina con cloruro de tetradecanoilo, sililación del alcohol primario con TBDPS, acilación del alcohol secundario con cloruro de decanoilo, e hidrólisis del grupo de protección sililo usando TBAF, se obtuvo el alcohol primario. Este material se fosforiló, desbloqueó con TFA, se dimerizó con fosgeno y se separaron los grupos alilo de protección con fenilsilano y paladio, según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804772.

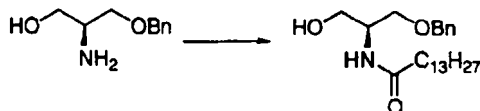
Preparación de ER-804947



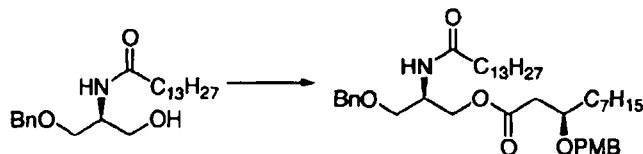
El alcohol (0,263 g) en THF (5 ml) se añadió gota a gota a hidruro sódico al 60% lavado (0,216 g) en DMF (2,0 ml) a temperatura ambiente, bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos después de cuyo tiempo se añadió bromuro de bencilo (0,272 ml) con una cantidad catalítica (0,05 g) de yoduro de tetrabutilamonio. La mezcla de reacción final se agitó durante un período adicional de una hora después de cuyo tiempo la mezcla se apagó y se trató del modo habitual obteniendo 0,365 g.



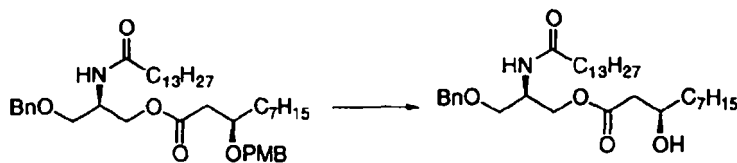
El aminoalcohol protegido (0,189 g) se hidrolizó usando ácido clorhídrico 4 N (2,5 ml) seguido de solución de hidróxido sódico al 40% (2,5 ml) según se ha descrito anteriormente, obteniendo 0,121 g.



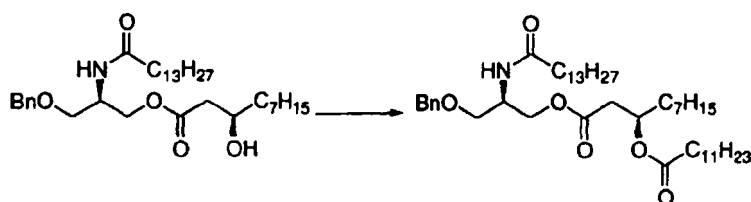
El aminoalcohol (0,121 g) se disolvió en cloruro de metileno (2 ml) con solución saturada de bicarbonato sódico (2 ml). Después de enfriar a 0°C, se añadió gota a gota cloruro de miristoilo (0,199 ml). Después de agitación continuada durante 2 horas, la mezcla se trató del modo habitual obteniendo 0,181 g.



El alcohol (0,181 g) se disolvió en cloruro de metileno (5 ml) con el ácido (0,180 g) y 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida (EDC, 0,133 g). La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió 4-dimetilaminopiridina seguido de agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. El tratamiento habitual dio 0,310 g.

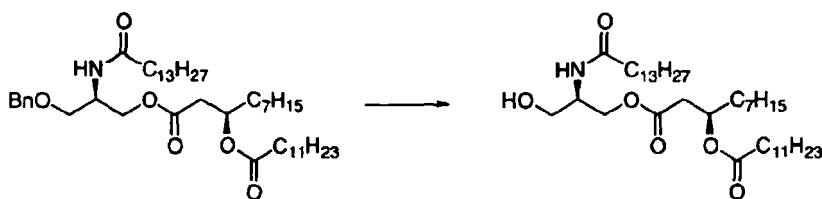


El éter para-metoxibencilico (0,305 g) se disolvió en acetonitrilo (8 ml) con agua (2 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió nitrato cérico amónico (1,110 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas al cabo de cuyo tiempo usando el tratamiento normal se obtuvo el alcohol crudo.



ES 2 315 511 T3

El alcohol crudo se disolvió en cloruro de metileno (8 ml) con ácido láurico (0,126 g) y 4-dimetilaminopiridina (0,011 g). Después de enfriar a 0°C, se añadió EDC (0,119 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. El tratamiento habitual dio 0,355 g.



El éter bencílico (0,355 g) se disolvió en acetato de etilo (50 ml) con hidróxido de paladio (0,048 g) y ácido acético (0,25 ml). La mezcla de reacción se colocó bajo 344,7 kPa de una atmósfera de hidrógeno y se agitó fuertemente durante 10 horas. El tratamiento del modo habitual proporcionó 0,255 g.

Este material fue fosforilado, desbloqueado con TFA, dimerizado con fosgeno y se separaron los grupos de protección con fenilsilano y paladio, según se ha descrito anteriormente, obteniendo el compuesto ER-804947.

Ejemplos biológicos

Ejemplo 7

Inducción de citoquinas (*in vitro*)

A. Ensayos en sangre entera humana

El sistema humano de que se dispone más fácilmente para ensayar la actividad de compuestos sobre monocitos/macrófagos está en la sangre entera. Diversas concentraciones de compuestos de la invención fueron añadidas como "stocks" 10x en 50 μ l de solución de sales equilibradas, de Hank (HBSS) exenta de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺, seguido de 50 μ l de HBSS en 400 μ l de sangre entera heparinizada obtenida de donantes normales (de 18-51 años de edad; 50-104 kg de peso), en los pocillos de placas de ensayo de plástico, con un volumen total de 500 μ l/pocillo (la concentración final de sangre entera fue 80%). Después de un período de incubación de 3 horas con agitación suave, a 37°C, en una atmósfera con CO₂ al 5%, las placas de ensayo fueron sometidas a centrifugación a 1000 x g durante 10 minutos, a 4°C, se extrajo el plasma y se congeló a -80°C. Se analizaron muestras del plasma para determinar TNF-alfa, IL-10 y IL-12 mediante el método de ensayo ELISA (Genzyme Corp., Cambridge, MA). Cada punto del ensayo fue examinado por triplicado.

Como muestra la Figura 1, los compuestos tales como el 100, 184 y 186 estimulan las células llevadas por la sangre liberando TNF-alfa. Esta actividad estimuladora puede ser comparada con la de 10 ng/ml de endotoxina (o LPS) presente en incubaciones similares en el mismo ensayo. Como indica la Tabla 1, la actividad de los compuestos (ensayados a 10 μ M) varía desde inactivo (tal como el compuesto 110) hasta compuestos que demuestran mayor actividad que la LPS patrón.

Como muestra la Figura 2, compuestos tales como el 803022, 804057 y 804058, estimulan las células llevadas por la sangre liberando IL-10. Los compuestos 803022, 804057, 804058 y 804059 estimulan las células llevadas por la sangre liberando IL-12.

Como muestra la Tabla 2, una diversidad de citoquinas son secretadas por células mononucleares de sangre periférica (PBMC), no adherentes y adherentes, cuando se trata con el compuesto 804057, incluyendo IL1- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, Interferón- α , Interferón- γ , GM-CSF y TNF α .

B. Líneas celulares humanas cultivadas

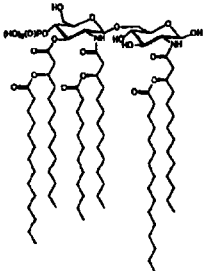
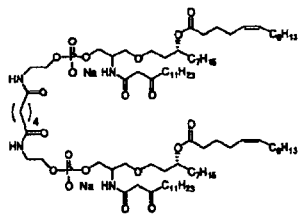
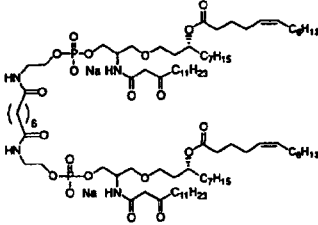
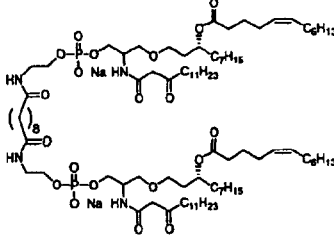
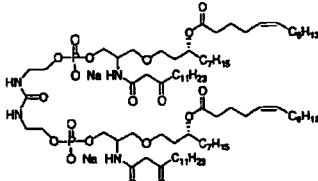
Resultados similares pueden ser obtenidos cuando se ensayan compuestos de la invención en un modelo de cultivo celular. En este ensayo, se examinan compuestos de la invención para determinar su aptitud para estimular la secreción de fosfatasa alcalina desde células THP-1 que han sido transfectadas con el gen para fosfatasa alcalina secretada bajo el control del promotor TNF-alfa, según ha sido descrito con detalle por Goto *et al.*, en Molecular Pharmacology 49; 860-873 (1996). En este ensayo, no obstante, pueden evaluarse los efectos de la separación del suero¹ - una condición que puede imitar más probablemente el medio ambiente subcutáneo. Como muestra la Figura 2 y se describe en la Tabla 1, los resultados de estos ensayos indican que los compuestos de la invención estimulan la inducción de genes bajo el control del promotor TNF-alfa cuando se añaden a células tanto en ausencia como en presencia de suero.

¹ Esto es importante para determinar si componentes del suero tales como proteínas de unión de lipopolisacáridos son necesarios para la actividad de fármacos.

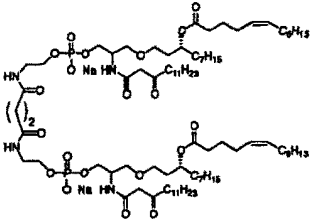
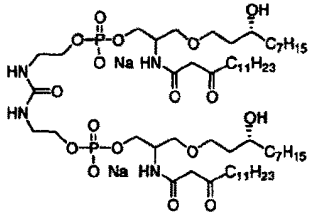
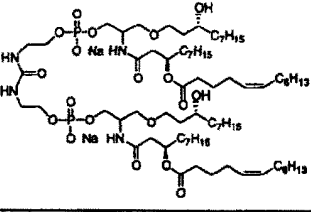
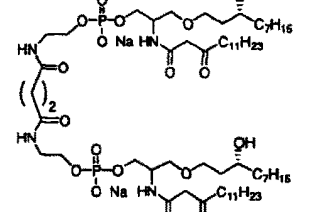
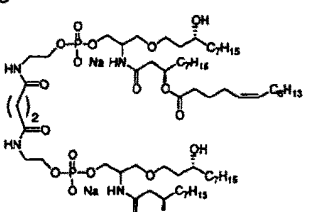
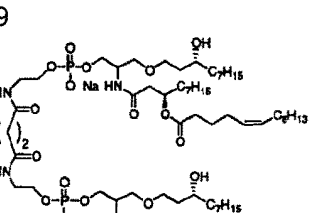
ES 2 315 511 T3

TABLA 1

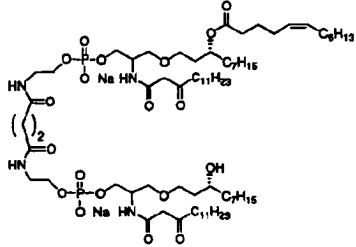
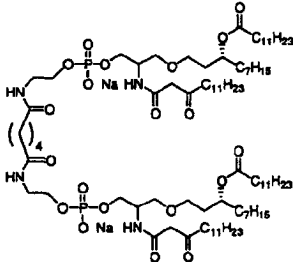
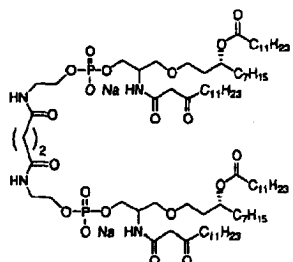
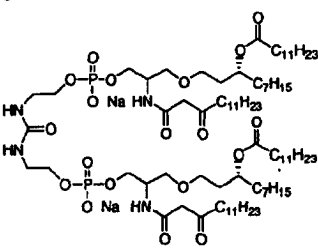
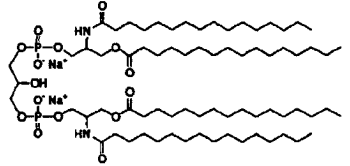
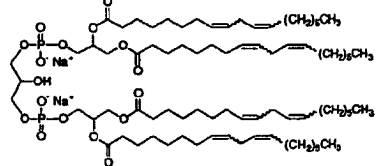
Estimulación de la liberación de citoquinas por compuestos, in vitro

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
	MPL Patrón 	29 ⁽²⁾		
	112022 	131 ± 10,2 (n=6)		
	111230 		49	
	111231 		17	
	111232 	158	155	225

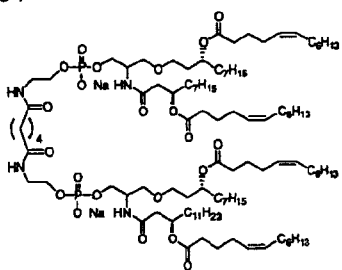
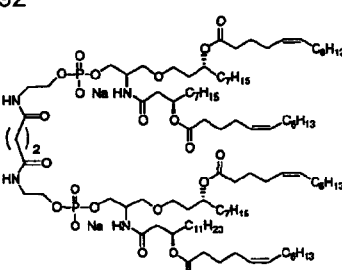
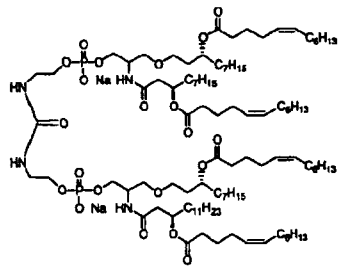
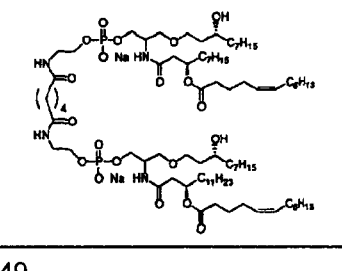
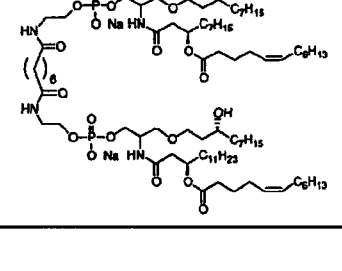
ES 2 315 511 T3

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
111233			141	
112043		0		
112044		0		
112047		0		
112048		0	24	
112049		0		

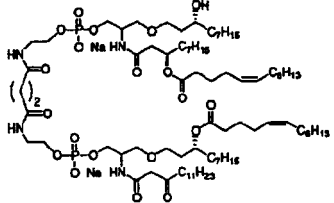
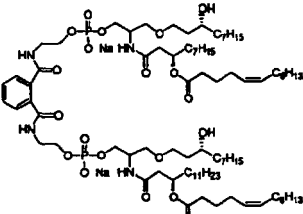
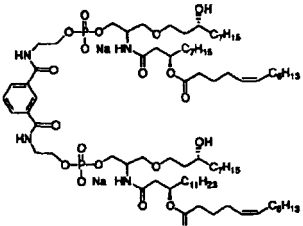
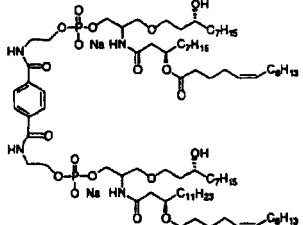
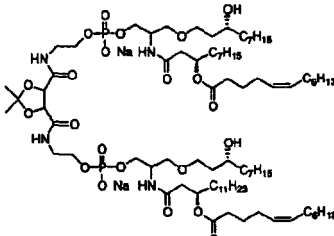
ES 2 315 511 T3

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
112063		0		
112064			50	
112065			86	
112066		162	330	
112071		0		
112072		0		

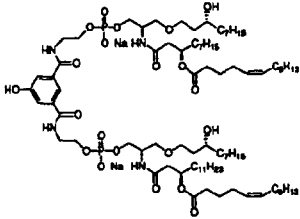
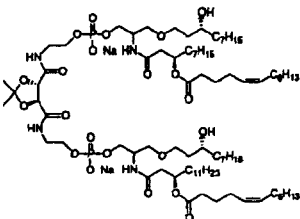
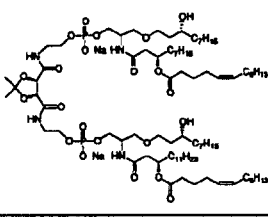
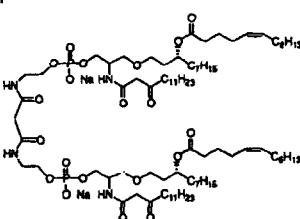
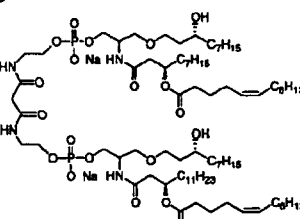
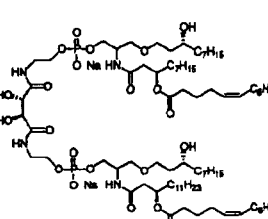
ES 2 315 511 T3

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
112091		0		
112092		0		
112093		0		
112098		0		
112049		0		

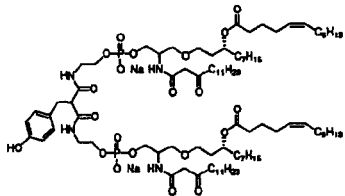
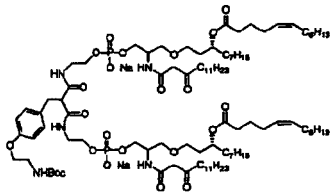
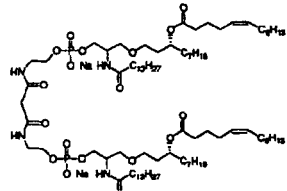
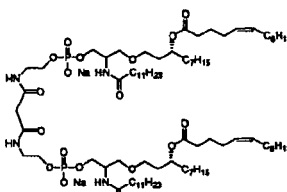
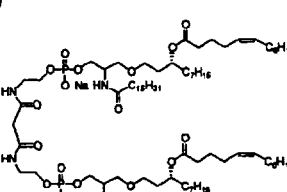
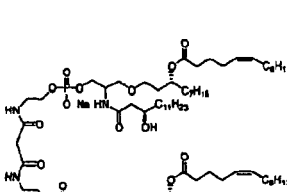
ES 2 315 511 T3

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
112100		0		
112859		0		
112860		0		
112861		0		
113634		0		

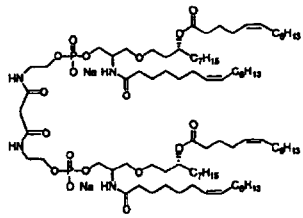
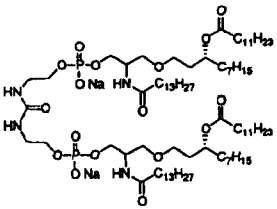
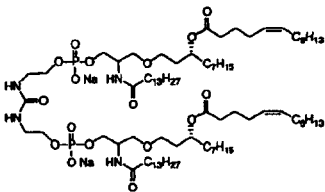
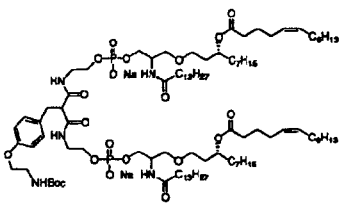
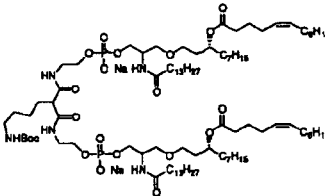
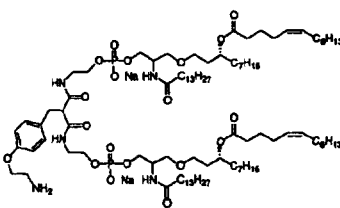
ES 2 315 511 T3

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
113635		0		
113643		0		
113644		0		
113651		133 ± 4,4 (n=4)	215	254
113665				
113666				

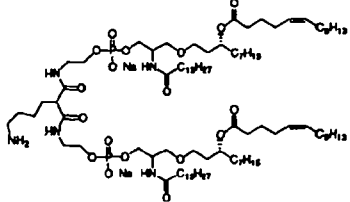
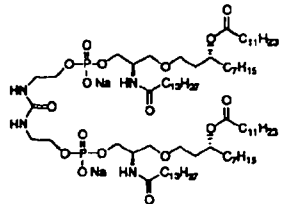
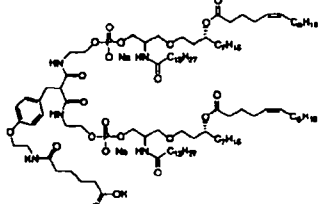
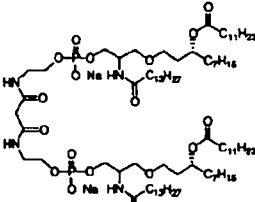
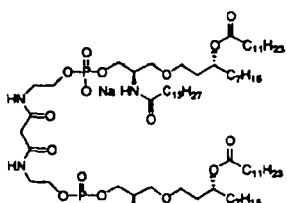
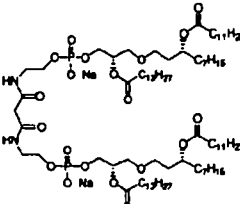
ES 2 315 511 T3

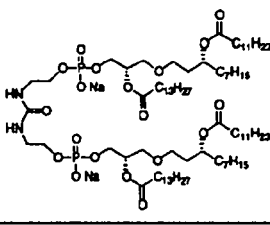
ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
118023		63		
019772		69		
118989		159		
118999		105		
119000		60		
119001		113		

ES 2 315 511 T3

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
118949		138		
119327		165 ± 33 (n=3)		
119328		181 ± 42 (n=3)		
119329		2 ± 2 (n=2)		
119521		103		
119522		129		

ES 2 315 511 T3

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 µM)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 µM) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
119523		176		
803022		164		
803045		65		
803056		151 ± 42		
803058		149 ± 37 (n=2)		
803059		2		

ER N°	Compuesto	Sangre entera (% de LPS en 10 μ M)	Estimulación de células THP-1 (% de compuesto 100 en 10 μ M) ⁽¹⁾	
			+suero	-suero
803592		15		

⁽¹⁾ La respuesta de cada ensayo se comparó con la del compuesto 100, 10 μ M, como patrón interno, que típicamente indujo un aumento de 2-3 veces la expresión de PLAP del TNF-alfa sobre la basal.
⁽²⁾ Ensayado en 5,8 μ M.

TABLA 2

Citoquinas que resultan de la estimulación de PBMC humana por ER-804057

Citoquina	Población de células	Extensión de la estimulación (horas)	Producción de citoquinas	
			Media	ER804057 (50 nM)
IL-1 α	PBMC no adherente	24 horas	4	108
	PBMC adherente	4 horas	0	8
IL-1 β	PBMC no adherente	24 horas	4	431
	PBMC adherente	4 horas	0	55
IL-6	PBMC adherente	4 horas	<2	551
IL-10	PBMC adherente	24 horas	17	175
IL-12p70	Sangre entera	24 horas	0	1332
Interferón- α	PBMC adherente	4 horas	61	345
	PBMC adherente	48 horas	5	175
Interferón- γ	PBMC no adherente	24 horas	4	331
GM-CSF	PBMC no adherente	24 horas	14	353
TNF- α	PBMC adherente	4 horas	7	3627

C. Esplenocitos murinos

La aptitud de compuestos para estimular la liberación de citoquinas a partir de esplenocitos puede ser determinada en un modelo de ratón. Células de bazo cosechadas desde ratones C57BL/6 son cultivadas durante 24 horas en medio de cultivo celular RPMI 1640 que contiene FBS al 5%, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM, 100 U/ml de penicilina/estreptomicina y beta-mercaptoetanol 50 μ M en diversas concentraciones de compuestos de ensayo, durante 20-24 horas, después de cuyo tiempo el sobrenadante del cultivo celular es ensayado para determinar la presencia de citoquinas.

Células de bazo cosechadas desde ratones fueron cultivadas durante 24 horas con el compuesto de ensayo y el sobrenadante fue ensayado para determinar la liberación de citoquinas. Como muestran las Figuras 3 y 4, la liberación de citoquinas tales como la IL-10 y el interferón-gamma partiendo de esplenocitos, es estimulada por compuestos tales como el 104, 106, 124, 160 y 162.

Estos ensayos utilizaron una población heterogénea de células derivadas desde el bazo. Esto hace posible que la inducción de citoquinas pueda ser causada tanto por efectos directos de los compuestos de ensayo sobre las células como por medio de estimulación más indirecta de "cascadas" de citoquinas en que la liberación de citoquina por un tipo de células puede inducir la liberación de otras citoquinas en otras células presentes en el mismo medio. Es posible que este "milieu" de citoquina sea responsable de parte de estas robustas respuestas inmunitarias.

D. Tolerancia a ligandos de la familia TLR

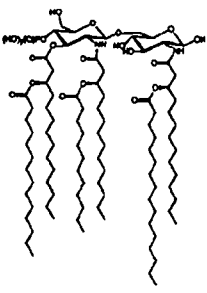
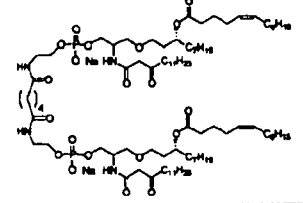
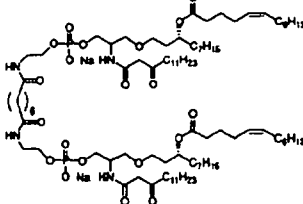
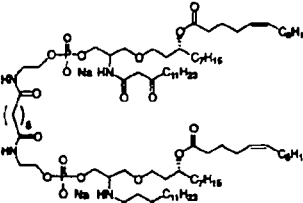
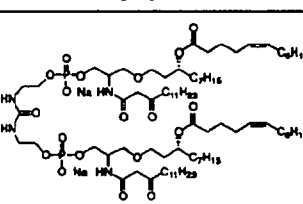
Se llevaron a cabo experimentos preliminares para determinar los intervalos de dosis para los diferentes ligandos, para ensayar de este modo niveles comparables de TNF α secretado. Células de la línea de macrófagos RAW 264.7 del ratón, fueron depositadas en placas de medio de cultivo completo RPMI 1640 (suero fetal bovino al 10%, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM, 100 U/ml de penicilina/estreptomicina y β -mercaptoetanol 50 μ M. Las células fueron tratadas durante 24 horas con el ligando de TLR4 ER-803022 a 0,1 μ g/ml, mediante la adición de una solución "stock" concentrada. Células testigo negativas fueron tratadas con un volumen equivalentes de PBS. Al cabo de 24 horas, las células fueron lavadas dos veces con medio completo RPMI 1640 e incubadas en medio solo durante 3 horas. Los cultivos fueron reestimulados después con los siguientes ligandos sintéticos de TLR: lipopéptido (S-lipo, un ligando para TLR2) a 0,1 μ g/ml, ER-803022 a 0,1 μ g/ml, un oligonucleótido de CpG del ratón de la secuencia TCCATGACGTTTCCTGATGCT (un ligando de TLR9 murino) a 0,5 μ g/ml, o PBS. Se tomaron los sobrenadantes a las 3 y 4 horas y se determinaron los niveles de citoquina mediante el ensayo ELISA. Como indica la Figura 6, las células de macrófagos del ratón que habían sido tratadas con una exposición inicial al compuesto inmunomodulador ER803022 liberaron menos TNF-alfa por exposición subsiguiente al compuesto ER803022 en comparación con las de lo que no habían sido tratados. Además, las células que habían sido tratadas previamente con el ER803022 pusieron de manifiesto una liberación disminuida de TNF-alfa en respuesta a exposición a la S-lipoproteína del ligando TLR2, y en respuesta al oligonucleótido de CpG, un ligando TLR9.

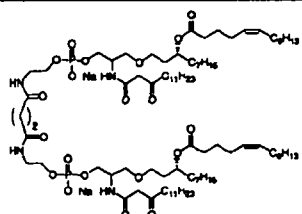
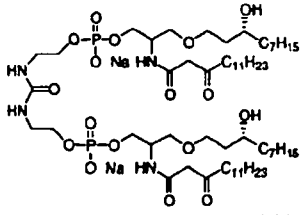
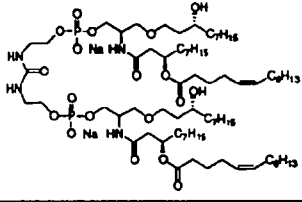
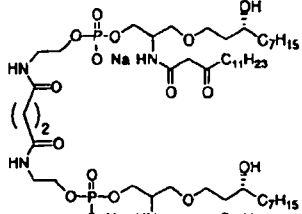
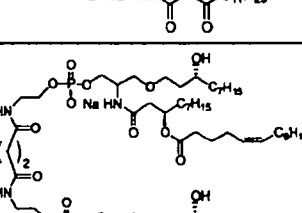
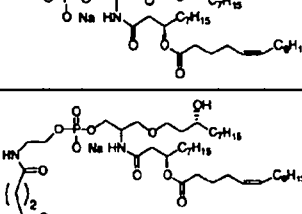
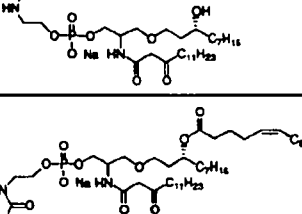
(Tabla pasa a página siguiente)

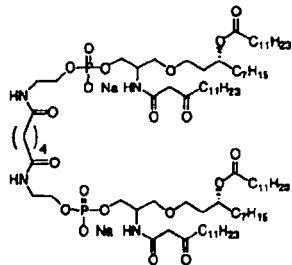
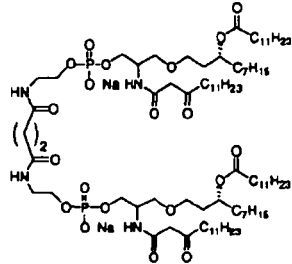
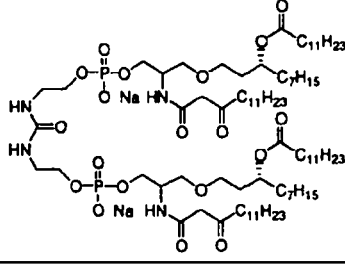
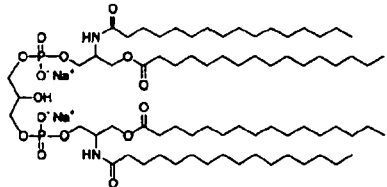
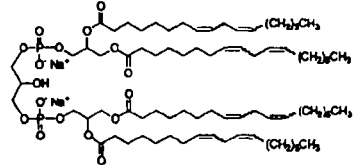
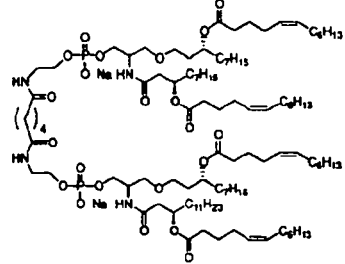
ES 2 315 511 T3

TABLA 3

ED₅₀ de WB frente al % de LPS en 10 ng

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
MPL Patrón		>> 10 µm
112022		0,696 µm
112230		
111231		0,29 µm
111232		

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
111233		
112043		
112044		
112047		
112048		>> 10 μM
112049		
112063		

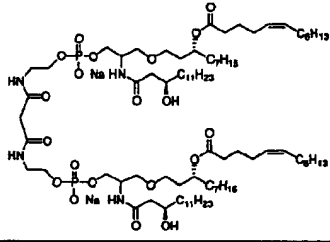
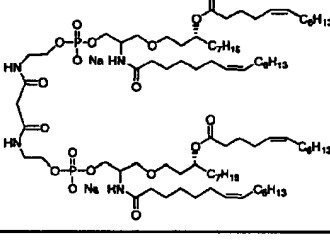
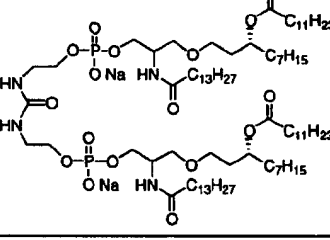
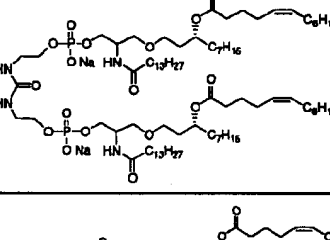
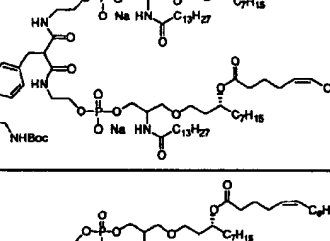
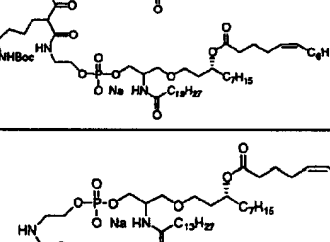
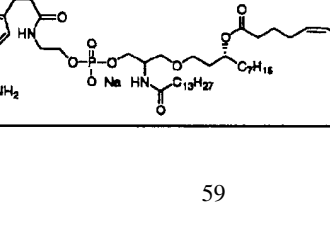
ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
112064		
112065		0,25 µM
112066		0,04 µM
112071		
112072		
112091		

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
112092		
112093		
112098		
112099		
112100		
112859		

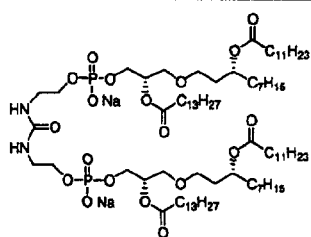
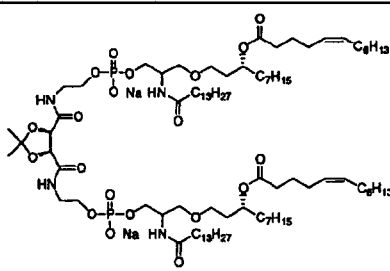
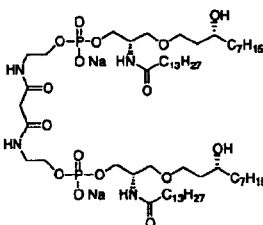
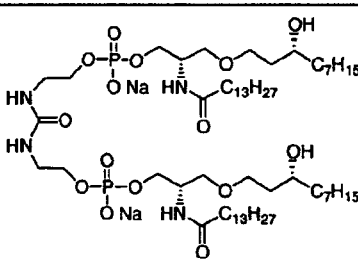
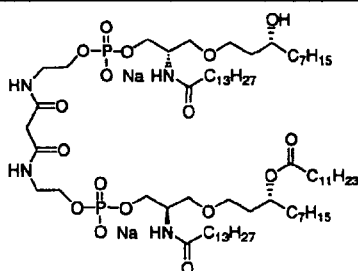
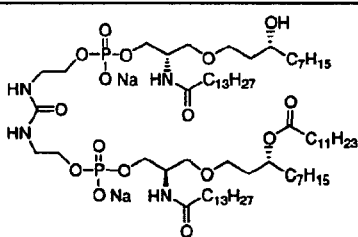
ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
112860		
112861		
113634		
113635		
113643		
113644		
113651		0,70 µM

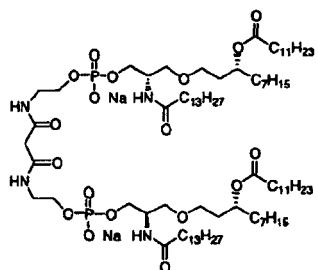
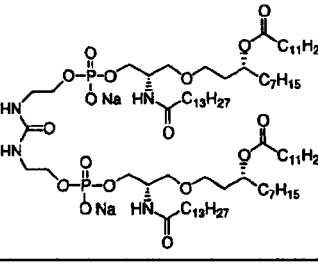
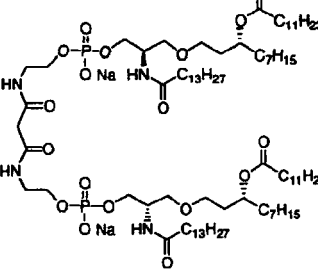
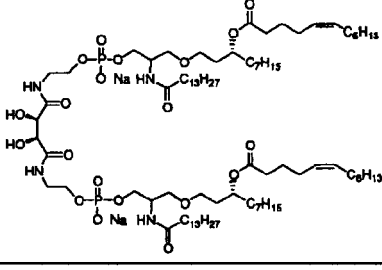
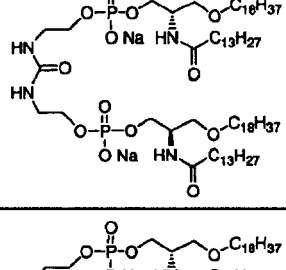
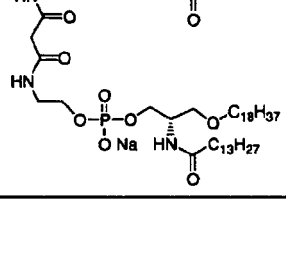
ES 2 315 511 T3

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
113665		
113666		
118023		
019772		
118989		0,1 µM
118999		
119000		

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
119001		1,23 µM
118949		
119327		0,015 µM
119328		>> 10 µM
119329		
119521		
119522		

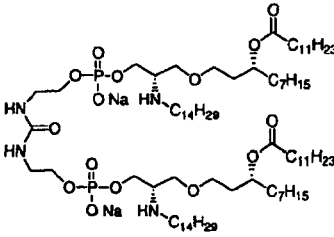
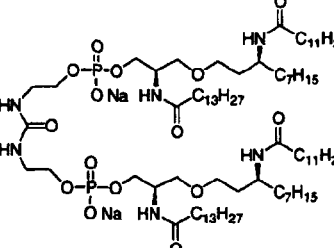
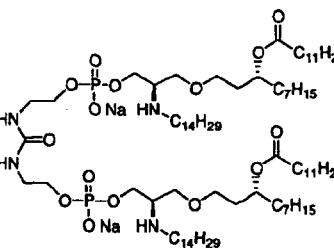
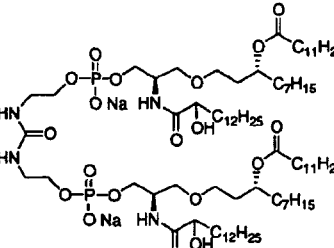
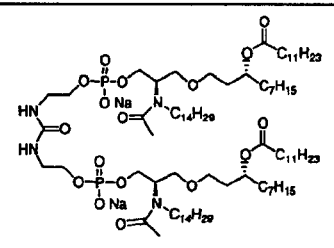
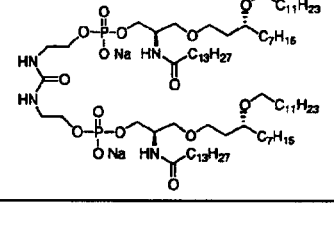
ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
119523		
803022		0,06 µM
803028		
803045		
803056		
803058		0,022 µM
803059		0,89 µM

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
803592		
803596		
803597		
803598		
803599		
803613		

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
803731		> 10 µM
803732		0,85 µM
803733		0,70 µM
803751		
803783		
803784		

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
803789		0,10 µM
804053		1,34 µM
804057		0,008 µM
804058		0,03 µM
804059		> 10 µM

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
804061		2,5 µM
804097		0,3 µM
804121		0,46 µM
804130		0,66 µM
804221		2,2 µM
804222		0,008 µM

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
804252		400 nM (576-021) + EtOH
804253		> 10 µM
804281		0,45 µM
804313		0,014 µM
804339		1,06 µM
804372		0,4 µM

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
804442		0,007 µM
804503		0,35 µM
804558		0,16 µM
804596		> 10 µM
804674		1,2 µM
804678		0,018 µM

ER N°	Estructura	ED ₅₀ de WB frente a LPS en 10 ng/ml
804679		0,53 µM
804680		0,015 µM
804732		<0,001 µM
804764		0,015 µM
804772		0,008 µM
804947		>> 10 µM

ES 2 315 511 T3

La Tabla 4 que sigue contiene el número de los compuestos tal como se ha referenciado aquí con respecto al número ER correspondiente.

TABLA 4

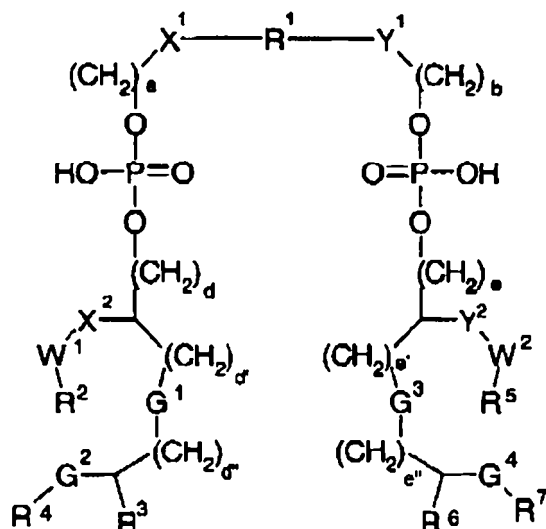
Correspondencia de los Compuestos Nos. con los ER Nos

Compuesto N°	ER N°	Compuesto N°	ER N°
16	112048	152	113634
31	803058	154	113635
48	803733	156	113643
50	803022	158	113644
62	803789	160	113651
72	803592	164	113665
100	112022	166	113666
102	111230	168	118023
104	111231	170	019772
106	111232	172	118989
108	111233	176	118999
110	112043	178	119000
112	112047	180	119001
114	112047	182	118949
116	112048	184	119327
118	112049	186	119328
120	112063	188	119329
122	112064	190	119521
124	112065	192	119522
126	112066	194	119523
128	112071	196	803022
130	112072	198	803045
132	112091	200	803056
134	112092	202	803058
136	112093	204	803059
138	112098	206	803592
140	112099		
142	112100		
146	112859		
148	112859		
150	112861		

REIVINDICACIONES

1. El uso de un compuesto de fórmula I como el ingrediente activo

I:



en la que:

R¹ esta seleccionado entre el grupo que consiste en:

- (a) C(O);
- (b) C(O)-alquilo(C₁₋₁₄)-C(O), en donde dicho alquilo C₁₋₁₄ está sustituido opcionalmente con hidroxilo, alcoxi C₁₋₅, alquilen(C₁₋₅)dioxi, alquil(C₁₋₅)amino o alquil(C₁₋₅)arilo, en donde dicho resto arilo de dicho alquil(C₁₋₅)arilo está sustituido opcionalmente con alcoxi C₁₋₅, alquil(C₁₋₅)amino, alcoxi(C₁₋₅)amino, alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)C(O)OH, -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)-C(O)-alquilo C₁₋₅;
- (c) C₂ a C₁₅ es alquilo de cadena lineal o ramificada sustituido opcionalmente con hidroxilo o alcoxi; y
- (d) -C(O)-arileno(C₆₋₁₂)-C(O)- en donde dicho arileno está sustituido opcionalmente con hidroxilo, halógeno, nitro o amino;

a y b son, independientemente, 0, 1, 2, 3 ó 4;

d, d', d'', e, e' y e'' son, independientemente, un número entero desde 1 a 4;

X¹, X², Y¹ e Y² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en nullo, oxígeno, NH y N(C(O)alquil(C₁₋₄), y N[alquil(C₁₋₄)]₂;

W¹ y W² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en carbonilo, metileno, sulfona y sulfóxido;

R² y R⁵ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en

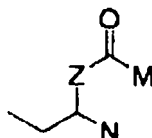
- (a) alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi,
- (b) alqueno o dialqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

ES 2 315 511 T3

(c) alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} , que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

(d) -NH-alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} , en donde dicho grupo alquilo está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi; y

(e)



en donde Z está seleccionado entre el grupo que consiste en O y NH, y M y N están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alcoxi, aciloxi, alquilamino y acilamino, de cadena lineal o ramificada, de C_2 a C_{20} ;

R^3 y R^6 están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo o alquenilo, de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} , sustituido opcionalmente con oxo o fluoro;

R^4 y R^7 están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en C(O)-alquilo o alquenilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} ; alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada de C_2 a C_{20} ; alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada de C_2 a C_{20} ; alquenilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C_2 a C_{20} ; en los que dichos grupos alquilo, alquenilo o alcoxi pueden estar sustituidos, independiente y opcionalmente, con hidroxilo, fluoro o alcoxi de C_1 a C_5 ;

G^1 , G^2 , G^3 y G^4 están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en oxígeno, metileno, amino, tiol, -NHC(O)-, y -N(C(O)alquilo de C_{1-4})-; o

G^2R^4 ó G^4R^7 pueden ser juntos un átomo de hidrógeno o hidroxilo;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable,

para preparar un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre el grupo que consiste en alergia, asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica, eccema, urticaria y alergias alimentarias o para la supresión de una respuesta inmunitaria asociada con anafilaxis.

2. El uso según la reivindicación 1, en el que los compuestos se unen a un receptor semejante a ToII.

3. El uso según la reivindicación 2, en el que el receptor semejante a ToII es el receptor 4 semejante a ToII.

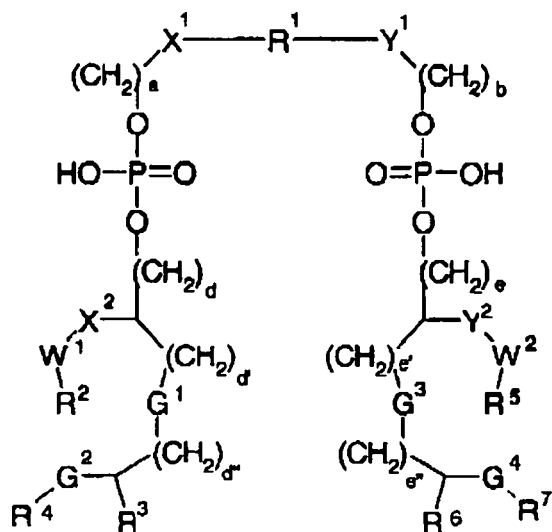
4. El uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es un ser humano.

5. El uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es un mamífero, un pez o un reptil.

6. El uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto estimula la producción de al menos una citoquina seleccionada entre el grupo que consiste en IL- 1α , IL- 1β , IL-6, IL-10, IL-12, interferón- α , interferón- γ y GM-CSF.

7. El uso de un compuesto inmunoestimulador de la fórmula I.

I:



en la que:

R¹ esta seleccionado entre el grupo que consiste en:

- C(O);
- C(O)-alquilo(C₁₋₁₄)-C(O), en donde dicho alquilo C₁₋₁₄ está sustituido opcionalmente con hidroxilo, alcoxi C₁₋₅, alquilen(C₁₋₅)dioxi, alquil(C₁₋₅)amino o alquil(C₁₋₅)arilo, en donde dicho resto arilo de dicho alquil(C₁₋₅)arilo está sustituido opcionalmente con alcoxi C₁₋₅, alquil-(C₁₋₅)amino, alcoxi(C₁₋₅)amino, alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)C(O)OH, -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)-C(O)-alquilo C₁₋₅;
- C₂ a C₁₅ es alquilo de cadena lineal o ramificada sustituido opcionalmente con hidroxilo o alcoxi; y
- C(O)-arileno(C₆₋₁₂)-C(O)- en donde dicho arileno está sustituido opcionalmente con hidroxilo, halógeno, nitro o amino;

a y b son, independientemente, 0, 1, 2, 3 ó 4;

d, d', d'', e, e' y e'' son, independientemente, un número entero desde 1 a 4;

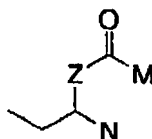
X¹, X², Y¹ e Y² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en nuII, oxígeno, NH y N(C(O)alquil(C₁₋₄)), y N[alquil(C₁₋₄)]₂;

W¹ y W² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en carbonilo, metileno, sulfona y sulfóxido;

R² y R⁵ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en

- alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;
- alqueno o dialqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;
- alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;
- NH-alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, en donde dicho grupo alquilo está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi; y

(e)



en donde Z está seleccionado entre el grupo que consiste en O y NH, y M y N están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alcoxi, aciloxi, alquilamino y acilamino, de cadena lineal o ramificada, de C₂ a C₂₀;

R³ y R⁶ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo o alquenilo, de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, sustituido opcionalmente con oxo o fluoro;

R⁴ y R⁷ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en C(O)-alquilo o alquenilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀; alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada de C₂ a C₂₀; alquenilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀; en los que dichos grupos alquilo, alquenilo o alcoxi pueden estar sustituidos, independiente y opcionalmente, con hidroxilo, fluoro o alcoxi de C₁ a C₅;

G¹, G², G³ y G⁴ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en oxígeno, metileno, amino, tiol, -NHC(O)-, y -N(C(O)alquilo de C₁₋₄)-; o

G²R⁴ ó G⁴R⁷ pueden ser juntos un átomo de hidrógeno o hidroxilo;

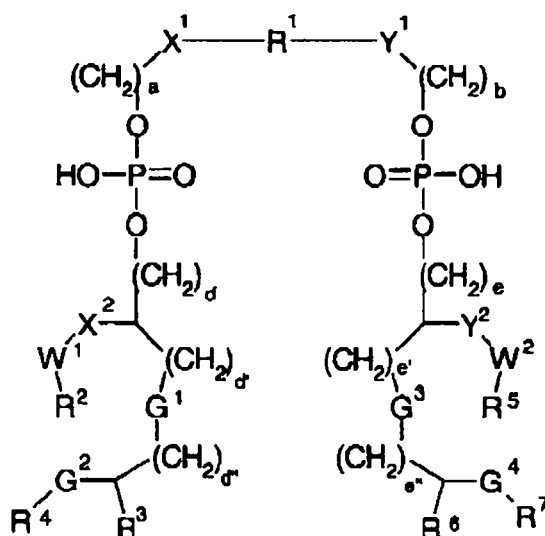
o una de sus sales farmacéuticamente aceptable,

como el ingrediente activo en la preparación de un medicamento para desensibilizar un sujeto contra la ocurrencia de una reacción alérgica en respuesta a contacto con un antígeno o un alérgeno particular.

8. El uso según la reivindicación 7, en el que la reacción alérgica es asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica, eccema, urticaria o alergias alimentarias.

9. El uso de un compuesto de la fórmula I

I:



en la que:

R¹ esta seleccionado entre el grupo que consiste en:

(a) C(O);

ES 2 315 511 T3

(b) C(O)-alquilo(C₁₋₁₄)-C(O), en donde dicho alquilo C₁₋₁₄ está sustituido opcionalmente con hidroxilo, alcoxi C₁₋₅, alquilen(C₁₋₅)dioxo, alquil(C₁₋₅)amino o alquil(C₁₋₅)arilo, en donde dicho resto arilo de dicho alquil(C₁₋₅)arilo está sustituido opcionalmente con alcoxi C₁₋₅, alquil(C₁₋₅)amino, alcoxi(C₁₋₅)amino, alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)C(O)OH, -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)-C(O)-alquilo C₁₋₅;

(c) C₂ a C₁₅ es alquilo de cadena lineal o ramificada sustituido opcionalmente con hidroxilo o alcoxi; y

(d) -C(O)-arileno(C₆₋₁₂)-C(O)- en donde dicho arileno está sustituido opcionalmente con hidroxilo, halógeno, nitro o amino;

a y b son, independientemente, 0, 1, 2, 3 ó 4;

d, d', d'', e, e' y e'' son, independientemente, un número entero desde 1 a 4;

X¹, X², Y¹ e Y² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en nullo, oxígeno, NH y N(C(O)alquil(C₁₋₄)), y N[alquil(C₁₋₄)]₂;

W¹ y W² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en carbonilo, metileno, sulfona y sulfóxido;

R² y R⁵ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en

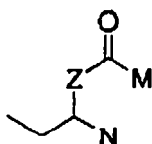
(a) alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi,

(b) alqueno o dialqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

(c) alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

(d) -NH-alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, en donde dicho grupo alquilo está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi; y

(e)



en donde Z está seleccionado entre el grupo que consiste en O y NH, y M y N están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo, alqueno, alcoxi, aciloxi, alquilamino y acilamino, de cadena lineal o ramificada, de C₂ a C₂₀;

R³ y R⁶ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo o alqueno, de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, sustituido opcionalmente con oxo o fluoro;

R⁴ y R⁷ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en C(O)-alquilo o alqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀; alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada de C₂ a C₂₀; alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada de C₂ a C₂₀; alqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀; en los que dichos grupos alquilo, alqueno o alcoxi pueden estar sustituidos, independiente y opcionalmente, con hidroxilo, fluoro o alcoxi de C₁ a C₅;

G¹, G², G³ y G⁴ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en oxígeno, metileno, amino, tiol, -NHC(O)-, y -N(C(O)alquilo de C₁₋₄)-; o

G²R⁴ ó G⁴R⁷ pueden ser juntos un átomo de hidrógeno o hidroxilo;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable,

como el ingrediente activo para preparar un medicamento para prevenir mejorar o retardar el asma.

10. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que está presente uno o más de los siguientes:

cada uno de a y b es 2;

cada uno de X¹ e Y¹ es NH;

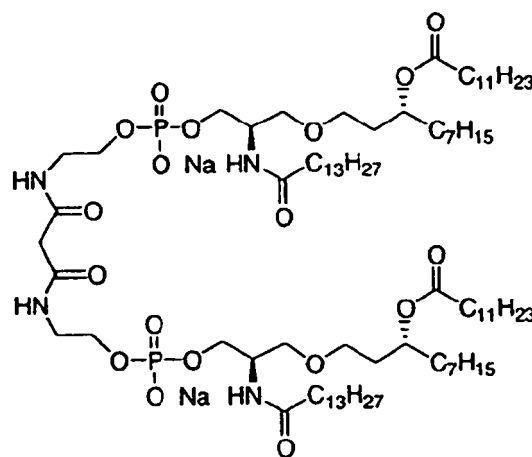
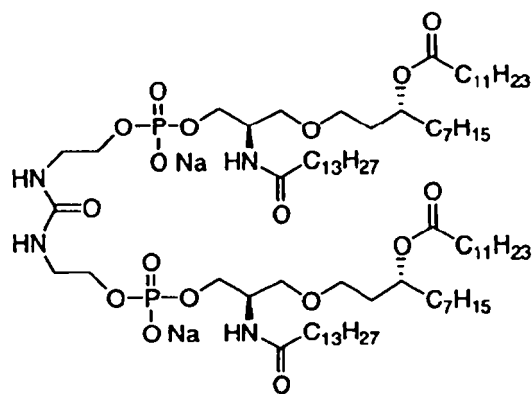
R¹ es C(O) ó C(O)alquil(C₁₋₁₄)-C(O);

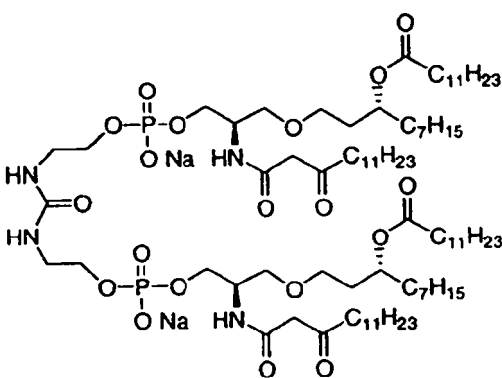
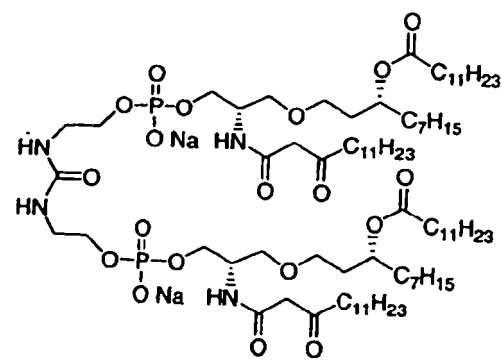
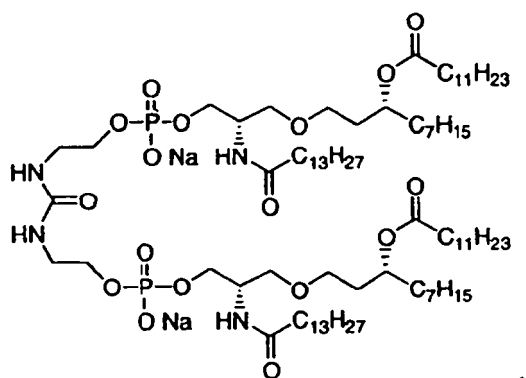
cada uno de d' y e' es 1 ó cada uno de d' y e' es 2;

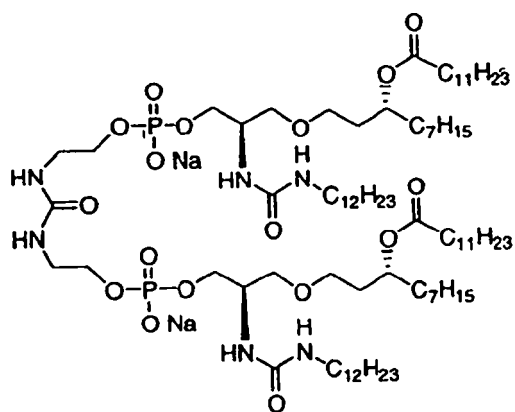
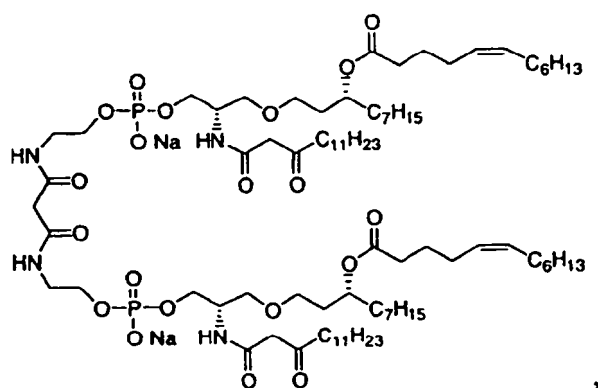
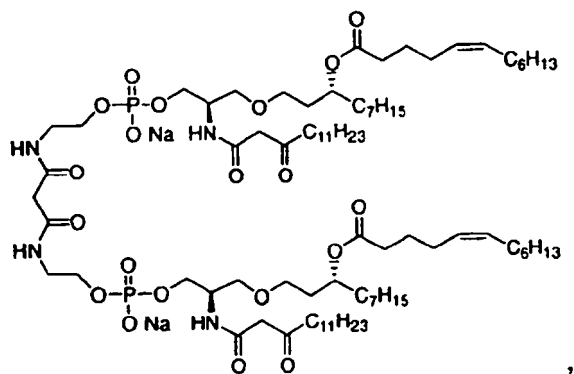
cada uno de d'' y e'' es 1.

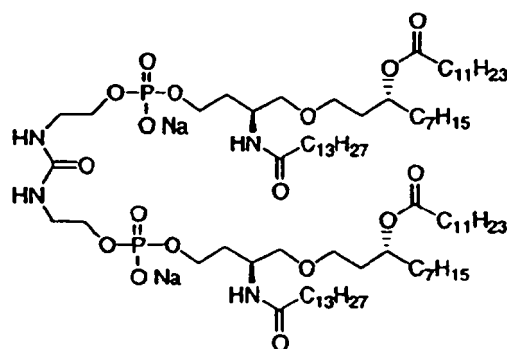
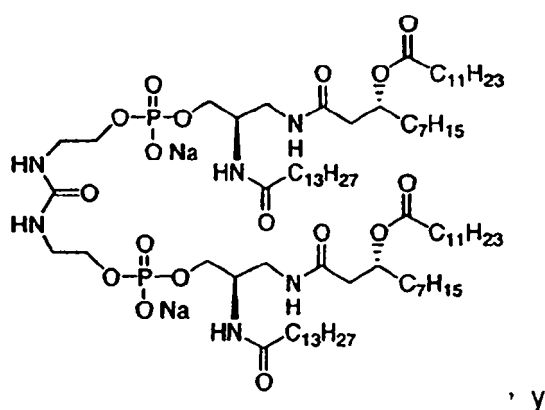
11. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que R¹ es C(O)alquil(C₁₋₁₄)-C(O) en donde dicho alquil (C₁₋₁₄) está sustituido, opcionalmente, con hidroxilo, alcoxi C₁₋₅, alquilen(C₁₋₅)dioxo, alquil(C₁₋₅)amino o alquil(C₁₋₅)arilo, en donde dicho resto arilo de dicho alquil(C₁₋₅)arilo está sustituido, opcionalmente, con alcoxi C₁₋₅, alquil(C₁₋₅)amino, alcoxi C₁₋₅-amino, alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi C₁₋₅, -O-alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi C₁₋₅, -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)-C(O)OH, -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)-C(O)-alquilo C₁₋₅.

12. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el compuesto de fórmula I está seleccionado entre:

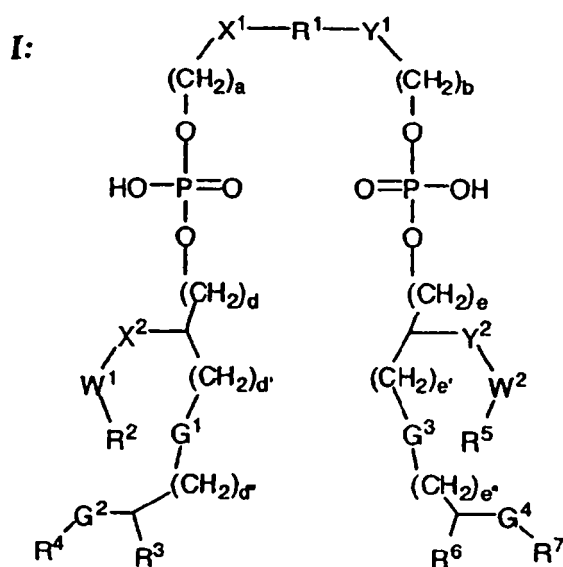








13. Una composición para usar en el tratamiento de alergias, asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica, eccema, urticaria o alergias alimentarias; para suprimir una respuesta inmunitaria asociada con anafilaxis; para desensibilizar a un sujeto contra la ocurrencia de una reacción alérgica en respuesta a contacto con un antígeno o un alérgeno particular; o para prevenir, mejorar o retardar el asma, en donde dicha composición comprende, como ingrediente activo, un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable:



en la que:

R¹ esta seleccionado entre el grupo que consiste en:

(a) C(O);

(b) C(O)-alquilo(C₁₋₁₄)-C(O), en donde dicho alquilo C₁₋₁₄ está sustituido opcionalmente con hidroxilo, alcoxi C₁₋₅, alquilen(C₁₋₅)dioxo, alquil(C₁₋₅)amino o alquil(C₁₋₅)arilo, en donde dicho resto arilo de dicho alquil(C₁₋₅)arilo está sustituido opcionalmente con alcoxi C₁₋₅, alquil-(C₁₋₅)amino, alcoxi(C₁₋₅)amino, alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-alcoxi(C₁₋₅), -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)C(O)OH, -O-alquil(C₁₋₅)amino-C(O)-alquil(C₁₋₅)-C(O)-alquilo C₁₋₅;

(c) C₂ a C₁₅ es alquilo de cadena lineal o ramificada sustituido opcionalmente con hidroxilo o alcoxi; y

(d) -C(O)-arileno(C₆₋₁₂)-C(O)- en donde dicho arileno está sustituido opcionalmente con hidroxilo, halógeno, nitro o amino;

a y b son, independientemente, 0, 1, 2, 3 ó 4;

d, d', d'', e, e' y e'' son, independientemente, un número entero desde 1 a 4;

X¹, X², Y¹ e Y² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en nuII, oxígeno, NH y N(C(O)alquil(C₁₋₄)), y N[alquil(C₁₋₄)]₂;

W¹ y W² están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en carbonilo, metileno, sulfona y sulfóxido;

R² y R⁵ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en

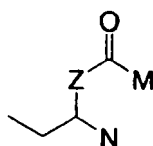
(a) alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi,

(b) alqueno o dialqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

(c) alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, que está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi;

(d) -NH-alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, en donde dicho grupo alquilo está sustituido opcionalmente con oxo, hidroxilo o alcoxi; y

(e)



en donde Z está seleccionado entre el grupo que consiste en O y NH, y M y N están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo, alqueno, alcoxi, aciloxi, alquilamino y acilamino, de cadena lineal o ramificada, de C₂ a C₂₀;

R³ y R⁶ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en alquilo o alqueno, de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀, sustituido opcionalmente con oxo o fluoro;

R⁴ y R⁷ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en C(O)-alquilo o alqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀; alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada de C₂ a C₂₀; alcoxi de cadena lineal o de cadena ramificada de C₂ a C₂₀; alqueno de cadena lineal o de cadena ramificada, de C₂ a C₂₀; en los que dichos grupos alquilo, alqueno o alcoxi pueden estar sustituidos, independiente y opcionalmente, con hidroxilo, fluoro o alcoxi de C₁ a C₅;

G¹, G², G³ y G⁴ están seleccionados, independientemente, entre el grupo que consiste en oxígeno, metileno, amino, tiol, -NHC(O)-, y -N(C(O)alquilo de C₁₋₄)-; o

G²R⁴ ó G⁴R⁷ pueden ser juntos un átomo de hidrógeno o hidroxilo;

14. La composición según la reivindicación 13, en la que:

cada uno de a y b es 2;

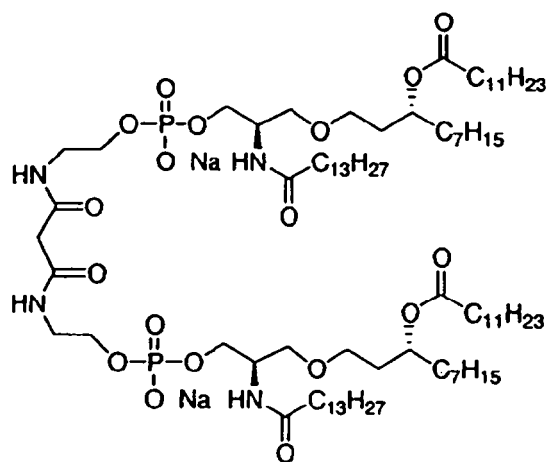
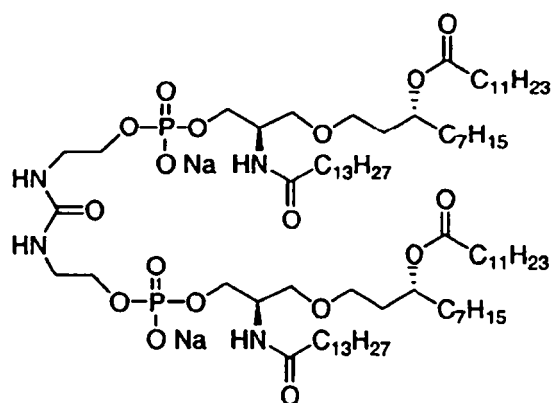
cada uno de X¹ e Y¹ es NH;

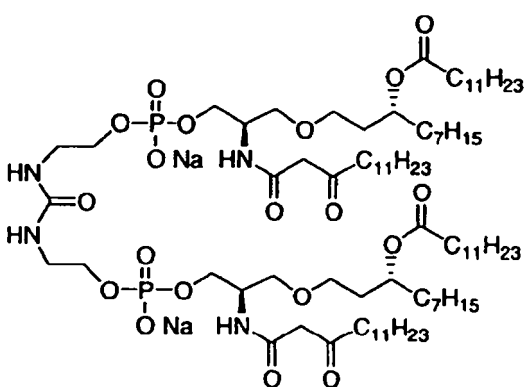
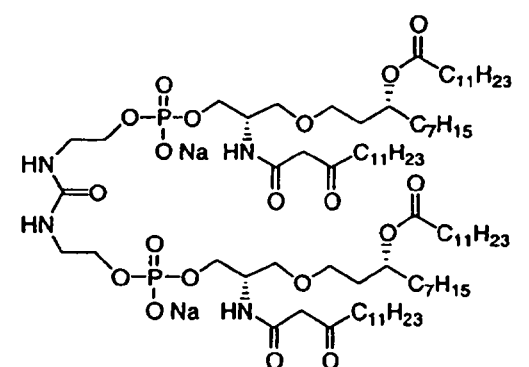
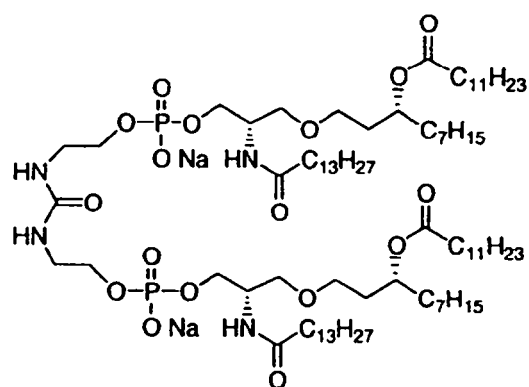
R¹ es C(O) ó C(O)alquil(C₁₋₁₄)-C(O);

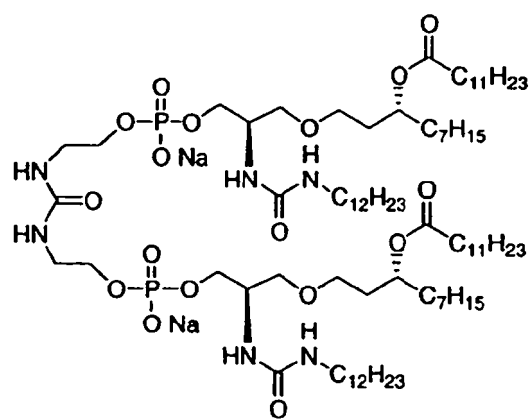
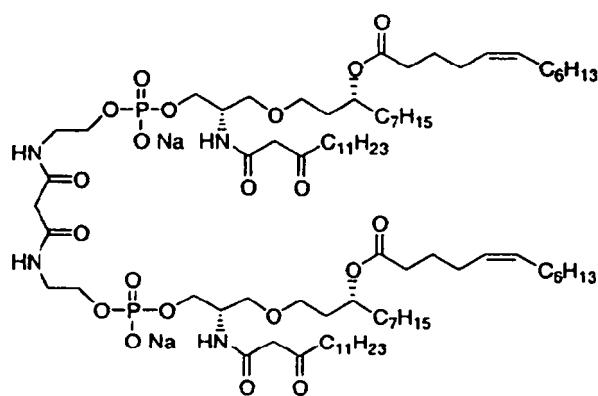
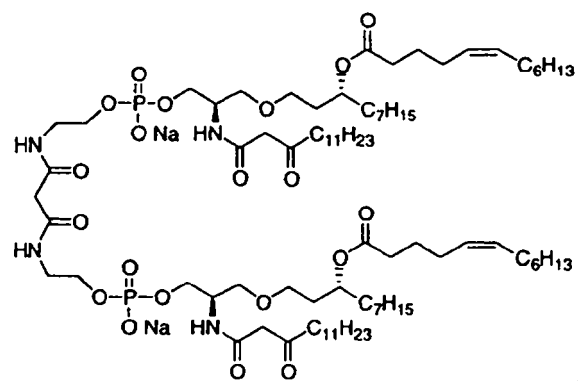
cada uno de d' y e' es 1 ó cada uno de d' y e' es 2;

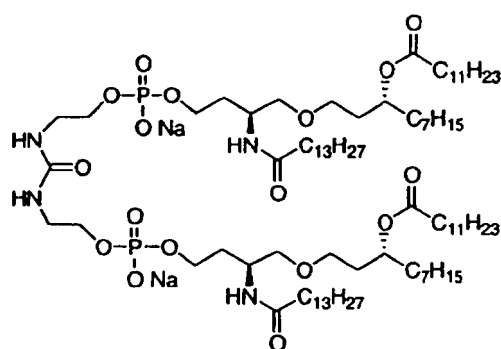
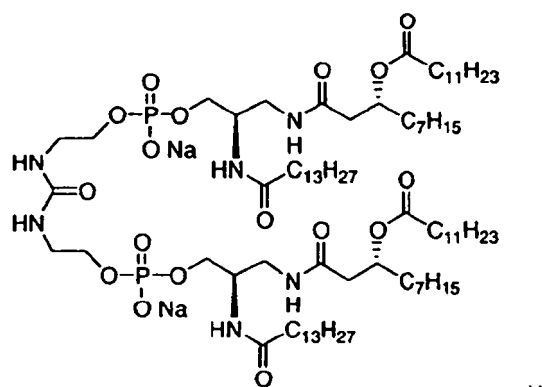
cada uno de d'' y e'' es 1.

15. La composición según la reivindicación 13, en la que el compuesto de fórmula (I) está seleccionado entre el grupo que consiste en:

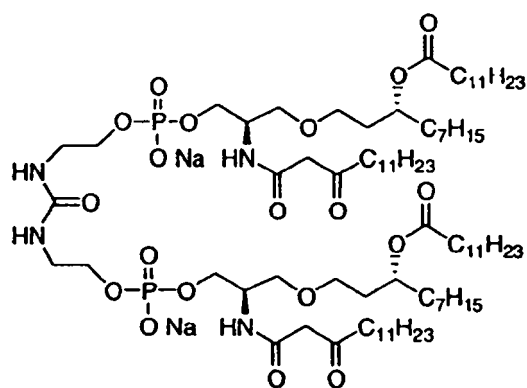








16. La composición según la reivindicación 13, en la que el compuesto de fórmula (I) es



17. La composición según la reivindicación 16, para usar para prevenir, mejorar o retardar el asma.

18. La composición según la reivindicación 16, para usar para desensibilizar a un sujeto contra la ocurrencia de una reacción alérgica en respuesta a contacto con un antígeno o un alérgeno particular. ¹ Esto es importante para determinar si componentes del suero tales como proteínas de unión de lipopolisacáridos son necesarios para la actividad de fármacos.

Figura 1.

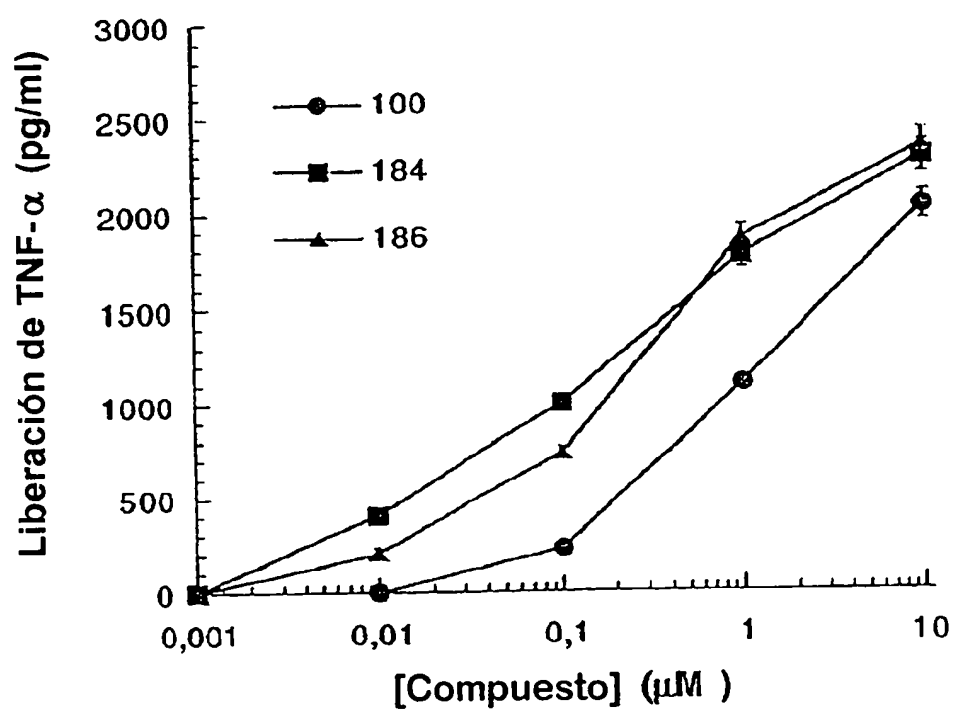


Figura 2.

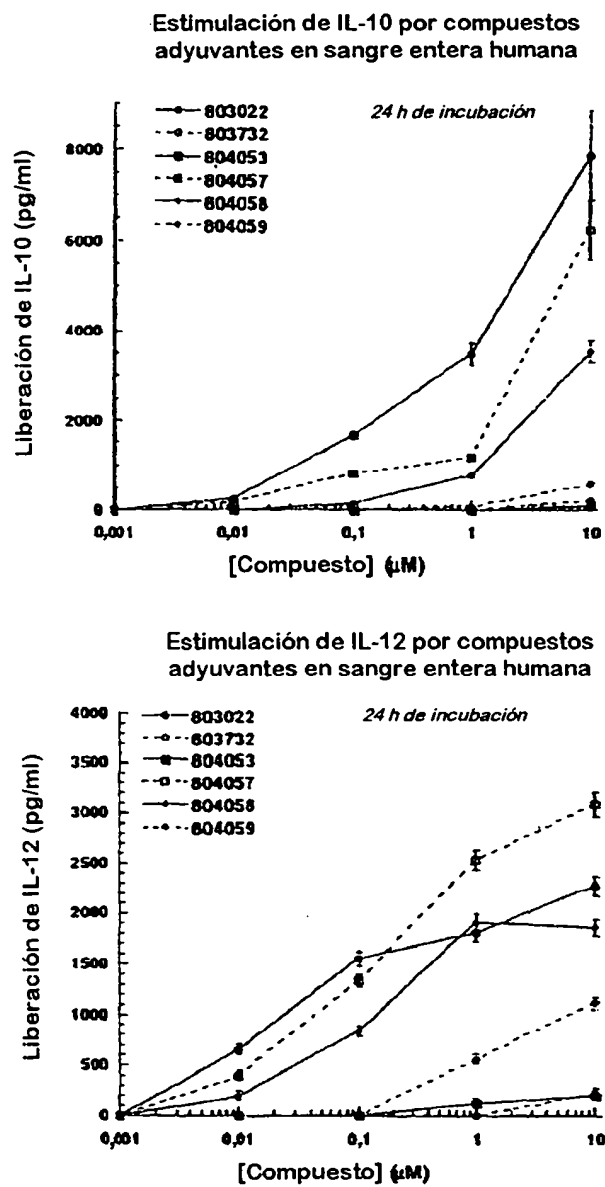


Figura 3.

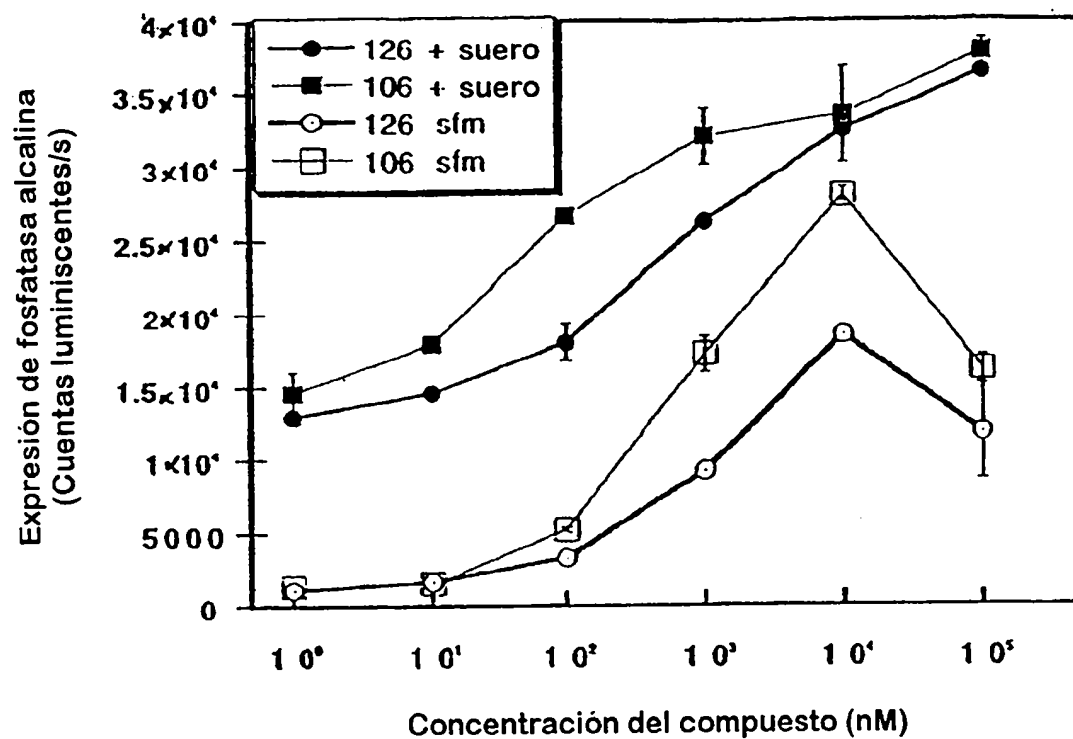


Figura 4.

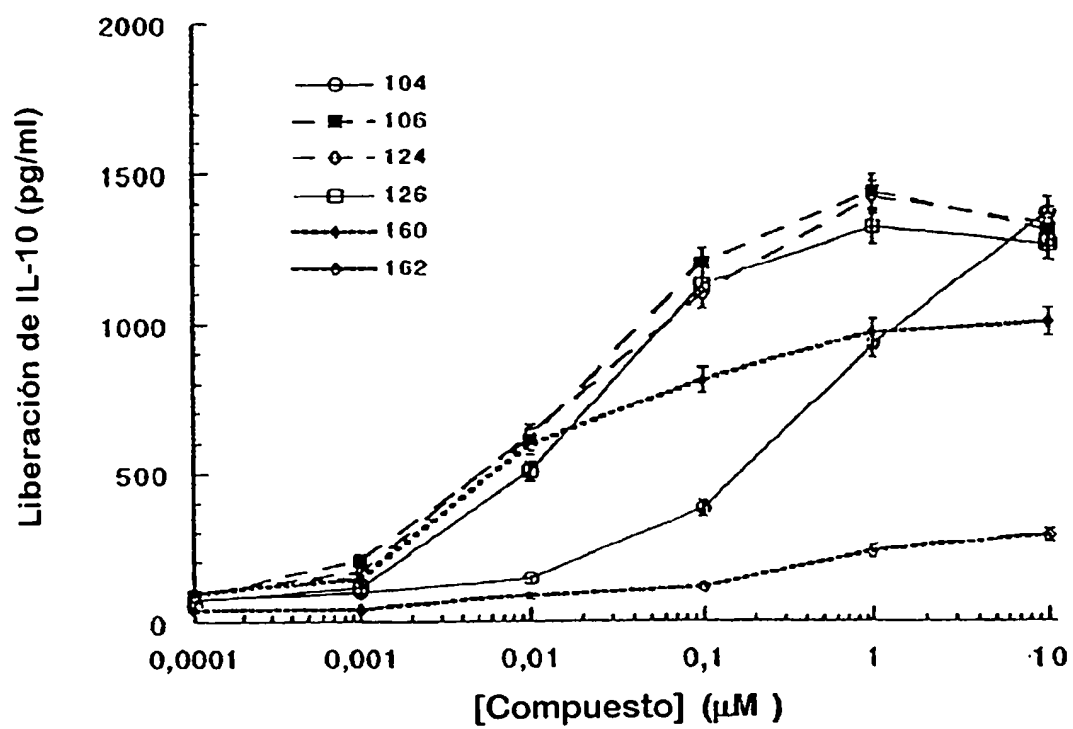


Figura 5.

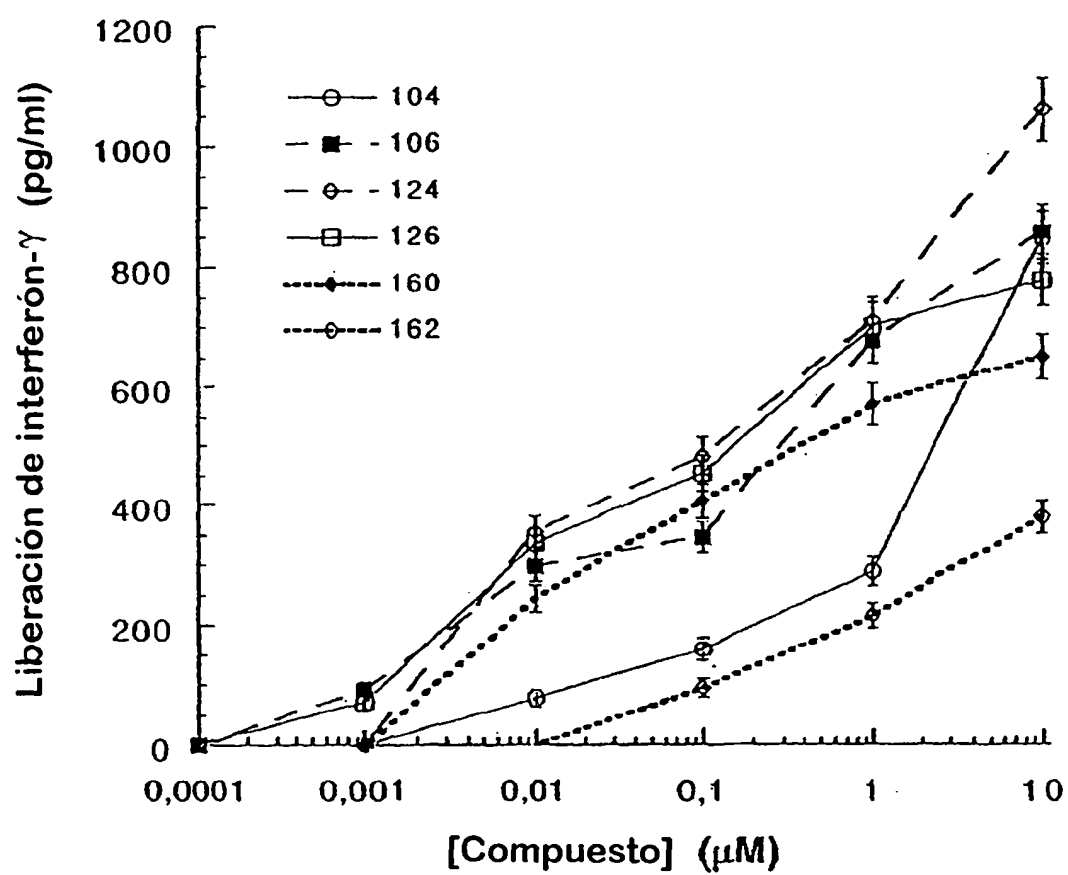


Figura 6.**Tolerancia cruzada de TLR
con pretratamiento de ER803022**