



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 285 125**

51 Int. Cl.:

C07D 333/52 (2006.01)

A61K 31/381 (2006.01)

C07D 333/68 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03731435 .8**

86 Fecha de presentación : **29.05.2003**

87 Número de publicación de la solicitud: **1532135**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **25.05.2005**

54

Título: **Inhibidores de NF- κ B.**

30

Prioridad: **06.06.2002 US 386557 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2007

73

Titular/es: **SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION**
One Franklin Plaza, P.O. Box 7929
Philadelphia, Pennsylvania 19101, US

72

Inventor/es: **Callahan, James, F. y**
Wan, Zehong

74

Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 285 125 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de NF- κ B.

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere en general a un procedimiento de inhibición de la activación patológica del factor de transcripción NF- κ B (factor nuclear- κ B) usando compuestos de amino-benzotiofeno. Dichos procedimientos son particularmente útiles para tratar enfermedades en las que está implicada la activación del NF- κ B. Más específicamente, estos procedimientos pueden usarse para inhibir la fosforilación por IKK- β (I κ B quinasa- β , conocida también como IKK-2) de I κ B (proteína inhibidora κ B)-que evita la posterior degradación y activación de los dímeros del NF- κ B. Dichos procedimientos son útiles en el tratamiento de diversas enfermedades asociadas con la activación de NF- κ B incluyendo trastornos inflamatorios y de reparación de tejido; particularmente artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, asma y COPD (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), osteoartritis; osteoporosis y enfermedades fibróticas; dermatosis, incluyendo psoriasis, dermatitis atópica y lesión cutánea inducida por radiación ultravioleta (UV); enfermedades autoinmunes incluyendo lupus sistémico eritematoso, esclerosis múltiple, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, rechazo de órganos y tejidos, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, aterosclerosis, reestenosis, diabetes, glomerulonefritis, cáncer, incluyendo enfermedad de Hodgkins, caquexia, inflamación asociada con infección y ciertas infecciones virales, incluyendo síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), síndrome de disneico agudo en adultos, ataxia telangiectasia.

Antecedentes de la invención

Recientes avances en el entendimiento científico de los mediadores implicados en enfermedades inflamatorias agudas y crónicas y cáncer han conducido a nuevas estrategias en la búsqueda de compuestos terapéuticos eficaces. Los enfoques tradicionales incluyen intervención directa sobre la diana tal como el uso de anticuerpos específicos, antagonistas del receptor, o inhibidores enzimáticos. Avances recientes en la aclaramiento de los mecanismos reguladores implicados en la transcripción y traducción de diversos mediadores han conducido a un mayor interés en enfoques terapéuticos dirigidos al nivel de transcripción genética.

El factor nuclear κ B (NF- κ B) pertenece a una familia de factores de transcripción diméricos complejos muy relacionados compuesta por diversas combinaciones de la familia de polipéptidos Rel/NF- κ B. La familia está compuesta por cinco productos génicos individuales en mamíferos, RelA (p65), NF- κ B1 (p50/p105), NF- κ B2 (p49/p100), c-Rel, y RelB, todos los cuales pueden formar hetero- u homodímeros. Estas proteínas comparten un “dominio de homología Rel” de 300 aminoácidos altamente homólogo que contiene los dominios de unión al ADN y de dimerización. En el extremo C-terminal del dominio de homología Rel está una secuencia de translocación nuclear importante en el transporte de NF- κ B desde el citoplasma hasta el núcleo. Además, p65 y cRel poseen potentes dominios de transactivación en sus extremos C-terminales.

La actividad del NF- κ B está regulada por su interacción con un miembro de la familia de proteínas inhibidoras de I κ B. Esta interacción bloquea eficazmente la secuencia de localización nuclear sobre las proteínas NF- κ B, evitando de esta manera la migración del dímero al núcleo. Una amplia variedad de estímulos activan NF- κ B a través de lo que es probable que sean rutas de transducción de señales múltiples. Se incluyen productos bacterianos (LPS), algunos virus (VIH-1, HTLV-1), citocinas inflamatorias (TNF α , IL-1), agentes de estrés medioambiental y oxidativo y de daño al ADN. Aparentemente común a todos los estímulos, sin embargo, está la fosforilación y posterior degradación de I κ B. I κ B se fosforila en dos serinas N-terminales por las quinasas de I κ B (IKK- α e IKK- β) identificadas recientemente. Los estudios de mutagénesis dirigida al sitio indican que estas fosforilaciones son críticas para la activación posterior del NF- κ B en que una vez fosforilada la proteína está marcada para la degradación por la ruta de ubiquitina-proteasoma. Libres de I κ B, los complejos activos de NF- κ B pueden translocarse al núcleo donde se unen de una manera selectiva a secuencias potenciadoras de gen específico preferidas. Entre los genes regulados por NF- κ B hay numerosas citoquinas y quimioquinas, moléculas de adhesión celular, proteínas de fase aguda, proteínas inmunoregulatoras, enzimas metabolizantes eicosanoides y genes anti-apoptóticos.

Se sabe bien que el NF- κ B desempeña un papel clave en la expresión regulada de un gran número de mediadores pro-inflamatorios incluyendo citoquinas tales como TNF, IL-1 β , IL-6 y IL-8, moléculas de adhesión celular, tales como ICAM y VCAM, y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). Se sabe que dichos mediadores desempeñan un papel en el reclutamiento de leucocitos en los sitios de inflamación y en el caso de iNOS, pueden conducir a la destrucción del órgano en algunas enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

La importancia del NF- κ B en trastornos inflamatorios se refuerza adicionalmente mediante estudios de inflamación de las vías respiratorias incluyendo asma, en las que se ha demostrado que el NF- κ B está activado. Esta activación puede sustentar la mayor producción de citoquina y la infiltración de leucocitos características de estos trastornos. Además, se sabe que los esteroides inhalados reducen la hipersensibilidad de las vías respiratorias y reducen la respuesta inflamatoria en vías respiratorias asmáticas. A la luz de los recientes hallazgos con respecto a la inhibición con glucocorticoides de NF- κ B, puede especularse que estos efectos están mediados por una inhibición de NF- κ B.

La evidencia adicional del papel del NF- κ B en trastornos inflamatorios procede de estudios de sinovio reumatoide. Aunque el NF- κ B normalmente está presente como un complejo citoplásmico inactivo, recientes estudios inmunohistoquímicos han indicado que el NF- κ B está presente en los núcleos, y por lo tanto es activo, en las células que comprenden el sinovio reumatoide. Adicionalmente, se ha demostrado que NF- κ B está activado en células sinoviales humanas en respuesta a la estimulación con TNF- α o IL-1 β . Dicha distribución puede ser el mecanismo subyacente para la mayor producción de citoquina y eicosanoide característica de este tejido. Véase Roshak, A. K., *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 271, 31496-31501 (1996). La expresión de IKK- β se ha demostrado en sinoviocitos de pacientes con artritis reumatoide y estudios de transferencia génica han demostrado el papel central de IKK- β en la producción estimulada del mediador inflamatorio en estas células. Véase Aupperle *et al.* *J. Immunology* 1999, 163:427-433 y Aupperle *et al.* *J. Immunology* 2001; 166:2705-11. Más recientemente, se demostró que la administración intra-articular de una construcción adenoviral de IKK- β de tipo silvestre provocaba la hinchazón de la pata mientras que la administración intra-articular de IKK- β negativo dominante inhibía la artritis inducida por el adyuvante en ratas. Véase Tak *et al. Arthritis and Rheumatism* 2001; 44:1897-1907.

También es probable que las proteínas NF- κ B/Rel e I κ B desempeñen un papel clave en la transformación neoplásica y metástasis. Los miembros de la familia están asociados con la transformación celular *in vitro* e *in vivo* como resultado de la sobreexpresión, amplificación génica, relocalaciones o translocaciones génicas. Además, la relocalización y/o amplificación de los genes que codifican estas proteínas se observan en el 20-25% de ciertos tumores linfoides humanos. Además, el NF- κ B es activado por ras oncogénico, el defecto más común en tumores humanos y el bloqueo de la activación del NF- κ B inhibe la transformación celular mediada por ras. Además, se ha informado de un papel para el NF- κ B en la regulación de la apoptosis, reforzando el papel de este factor de transcripción en la regulación de la proliferación de células tumorales. Se ha demostrado que el TNF, la radiación ionizante y los agentes que afectan al ADN activan el NF- κ B que a su vez conduce a la sobreexpresión regulada de diversas proteínas anti-apoptóticas. A la inversa, se ha demostrado que la inhibición del NF- κ B potencia la destrucción apoptótica mediante estos agentes en diversos tipos de células tumorales. Como esto representa probablemente un mecanismo principal de resistencia de las células tumorales a la quimioterapia, los inhibidores de la activación del NF- κ B pueden ser agentes quimioterapéuticos útiles como agentes individuales o como terapia adjunta. Recientes informes han implicado al NF- κ B como inhibidor de la diferenciación de las células esqueléticas así como regulador del desgaste muscular inducido por citoquina (Guttridge *et al. Science*; 2000; 289: 2363-2365), que soporta adicionalmente el potencial de los inhibidores de NF- κ B como nuevas terapias para el cáncer.

Se describen diversos inhibidores del NF- κ B en C. Wahl, *et al. J. Clin. Invest.* 101(5), 1163-1174 (1998), R. W. Sullivan, *et al. J. Med Chem.* 41, 413-419 (1998), J. W. Pierce, *et al. J. Biol. Chem.* 272, 21096-21103 (1997).

Se sabe que el producto marino natural himenialdisina inhibe NF- κ B. Roshak, A., *et al.*, *JPET*, 283, 955-961 (1997). Breton, J. J y Chabot-Fletcher, M. C., *JPET*, 282, 459-466 (1997).

Además, se han presentado solicitudes de patente sobre inhibidores de aminotiofeno de IKK-2, véase Callahan, *et al.*, documento WO 200203353; Baxter, *et al.*, documento WO 2001058890, Faull, *et al.*, documento WO 2003010158; Griffiths, *et al.*, documento WO 20030101.63; Fancelli, *et al.*, documento WO 200198290; inhibidores de imidazol de IKK-2, véase Callahan, *et al.*, documento WO 200230423; inhibidores de anilino-fenilpirimidina de IKK-2, véase Kois, *et al.*, documento WO 2002046171; inhibidores de β -carbolina de IKK-2, véase Ritzeler, *et al.*, documento WO 2001068648, Ritzeler, *et al.*, documento EP 1134221; Nielsch, *et al.* documento DE 19807993; Ritzeler, *et al.*, documento EP 1209158; inhibidores de indol de IKK-2, véase Ritzeler, *et al.*, documento WO 2001030774; inhibidores de bencimidazol de IKK-2, véase Ritzeler, *et al.*, documento DE 19928424; Ritzeler *et al.*, documento WO 2001000610; inhibidores de aminopiridina de IKK-2, véase Lowinger, *et al.*, documento WO 2002024679; Murata, *et al.*, documento WO 2002024693; Murata, *et al.*, documento WO 2002044153; inhibidores de pirazoloquinazolina de IKK-2, véase Beaulieu, *et al.*, documento WO 2002028860; Burke *et al.*, documento WO 2002060386, Burke, *et al.* documento US 20030022898; inhibidores de quinolina de IKK-2, Browner, *et al.*, documento WO 2002041843, Browner, *et al.*, documento US 20020161004 e inhibidores de piridilcianoguanidina de IKK-2, véase Bjorkling, *et al.*, documento WO 2002094813, Binderup *et al.*, documento WO 2002094322 y Madsen, *et al.*, documento WO 200294265. Se ha demostrado que los productos naturales estaurosporina, quercetina, K252a y K252b son inhibidores de IKK-2, véase Peet, G. W. y Li, J. *J. Biol. Chem.*, 274, 32655-32661 (1999) y Wisniewski, D., *et al.*, *Analytical Biochem.* 274, 220-228 (1999). Se han descrito también inhibidores sintéticos de IKK-2, véase Burke, *et al. J. Biol. Chem.*, 278, 1450-1456 (2003) y Murata, *et al., Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 13, 913-198 (2003) como inhibidores de IKK-2.

La Patente de Estados Unidos N° 3.963.750 describe la preparación de ciertos aminotiofenos. El documento EP 0747 052 describe moduladores del factor de transcripción NF- κ B con un resto benzotiofeno.

Sumario de la invención

La presente invención implica nuevos compuestos y nuevos procedimientos de inhibición de la activación del factor de transcripción NF- κ B usando los presentes compuestos.

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para tratar enfermedades que pueden modificarse terapéuticamente alterando la actividad del factor de transcripción NF- κ B.

ES 2 285 125 T3

Por consiguiente, en el primer aspecto, esta invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.

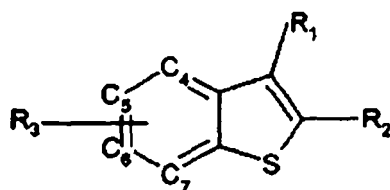
En otro aspecto, esta invención proporciona un procedimiento para tratar enfermedades en el que la patología de la enfermedad puede modificarse terapéuticamente inhibiendo la fosforilación y posterior degradación de I κ B por IKK- β .

En otro aspecto más, esta invención proporciona un procedimiento para tratar enfermedades en las que la patología de la enfermedad pueda modificarse terapéuticamente inhibiendo la activación patológica de NF- κ B.

En un aspecto particular, esta invención proporciona procedimientos para tratar diversas enfermedades asociadas con la activación de NF- κ B incluyendo trastornos inflamatorios y de reparación de tejido, particularmente artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, asma y COPD (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) osteoartritis, osteoporosis y enfermedades fibróticas, dermatosis, incluyendo psoriasis, dermatitis atópica y lesión cutánea inducida por radiación ultravioleta (UV); enfermedades autoinmunes incluyendo lupus sistémico eritematoso, esclerosis múltiple, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, rechazo de órganos y tejidos, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, aterosclerosis, reestenosis, diabetes, glomerulonefritis, cáncer, incluyendo enfermedad de Hodgkins, caquexia, inflamación asociada con infección y ciertas infecciones virales, incluyendo síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), síndrome disneico agudo en adultos y ataxia telangiectasia

Descripción detallada de la invención

Los compuestos de la presente invención se seleccionan entre la Fórmula (I) a continuación en este documento:



(I)

R₁ representa CONH₂;

R₂ representa NR₄R₅;

R₃ se selecciona entre el grupo constituido por H, CN, CF₃, halógeno, arilo, heteroarilo, alquilo, O-alquilo, y S-alquilo; y puede estar unido a cualquiera de C₄, C₅, C₆ o C₇;

R₄ representa H o alquilo; y

R₅ se selecciona entre el grupo constituido por H, CO-alquilo, SO₂-alquilo, CONH₂, CONH-alquilo, CONH-arilo, CONH-heteroarilo, CSNH₂, CSNH-alquilo, CSNH-arilo, CSNH-heteroarilo, SO₂NH₂, SO₂NH-alquilo, SO₂NH-arilo, y SO₂NH-heteroarilo; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los compuestos preferidos útiles en la presente invención incluyen: amida del ácido 2-amino-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico; y amida del ácido 2-ureido-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico amida del ácido.

Esta invención proporciona procedimientos para tratar diversas enfermedades asociadas con la activación de NF- κ B incluyendo trastornos inflamatorios y de reparación de tejido; particularmente artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, asma y COPD (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) osteoartritis, osteoporosis y enfermedades fibróticas; dermatosis, incluyendo psoriasis, dermatitis atópica y lesión cutánea inducida por radiación ultravioleta (UV); enfermedades autoinmunes incluyendo lupus sistémico eritematoso, esclerosis múltiple, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, rechazo de órganos y tejidos, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, aterosclerosis, reestenosis, diabetes, glomerulonefritis, cáncer, incluyendo enfermedad de Hodgkins, caquexia, inflamación asociada con infección y ciertas infecciones virales, incluyendo síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), síndrome disneico agudo en adultos, y ataxia telangiectasia.

Definiciones

La presente invención incluye todos los hidratos, solvatos, complejos y profármacos de los compuestos de esta invención. Los profármacos son cualquier compuesto unido covalentemente, que libera el fármaco precursor activo,

de acuerdo con la Fórmula I *in vivo*. Si está presente un centro quiral u otra forma de centro isomérico en un compuesto de la presente invención, se pretende que todas las formas de dicho isómero o isómeros, incluyendo enantiómeros y diastereómeros, estén incluidas en este documento. Los compuestos de la invención que contienen un centro quiral pueden usarse como una mezcla racémica, una mezcla enantioméricamente enriquecida, o la mezcla racémica puede separarse usando técnicas bien conocidas y un enantiómero individual puede usarse solo. En los casos en los que los compuestos tengan dobles enlaces carbono-carbono insaturados, ambos isómeros cis (Z) y trans (E) están dentro del alcance de esta invención. En los casos en los que pueden existir compuestos en formas tautoméricas, tales como tautómeros ceto-enol, cada forma tautomérica se contempla como incluida dentro de esta invención existiendo en equilibrio o predominantemente en una forma.

El significado de cualquiera de los sustituyentes en cualquier aparición en la Fórmula I o cualquier subfórmula de la misma es independiente de su significado, o del significado de cualquier otro sustituyente, en cualquier otra aparición, a menos que se especifique otra cosa.

Como se usa en este documento, “alquilo” se refiere a un grupo hidrocarburo opcionalmente sustituido unido mediante enlaces sencillos carbono-carbono y que tiene 1-6 átomos de carbono unidos juntos. El grupo hidrocarburo alquilo puede ser lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado. Los sustituyentes en el alquilo opcionalmente sustituido se seleccionan entre el grupo constituido por arilo, OH, O-alquilo, CO, halógeno, CF₃, y OCF₃.

Como se usa en este documento, “arilo” se refiere a un grupo aromático opcionalmente sustituido con al menos un anillo que tiene un sistema de electrones pi conjugado, que contiene hasta dos sistemas de anillo conjugados o condensados. Arilo incluye grupos arilo carbocíclico, y biarilo, todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos. Los sustituyentes se seleccionan entre el grupo constituido por halógeno, alquilo C₁₋₄, NH₂, OCF₃, CF₃, O-alquilo, S-alquilo, CN, CHO, SO₂-alquilo y NO₂.

Como se usa en este documento, “heteroarilo” se refiere a un grupo aromático opcionalmente sustituido con al menos un anillo que tiene un sistema de electrones pi conjugado, que contiene hasta dos sistemas de anillo conjugados o condensados y 1-3 heteroátomos seleccionados entre O, S y N. Heteroarilo incluye grupos heteroarilarilo carbocíclico, aril-heteroarilo y biheteroarilarilo, todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos. Los arilos preferidos incluyen fenilo y naftilo. Los arilos más preferidos incluyen fenilo. Los sustituyentes preferidos se seleccionan entre el grupo constituido por halógeno, alquilo C₁₋₄, NH₂, OCF₃, CF₃, O-alquilo, S-alquilo, CN, CHO, SO₂-alquilo y NO₂. Los ejemplos de anillos de heteroarilo incluyen pirrol, furano, tiofeno, indol, isoindol, benzofurano, iso-benzofurano, benzotiofeno, piridina, quinolina, isoquinolina, quinolizina, pirazol, imidazol, isoxazol, oxazol, isotiazol, tiazol, piridazina, pirimidina, y pirazina.

Como se usa en este documento “halógeno” incluye F, Cl, Br, y I.

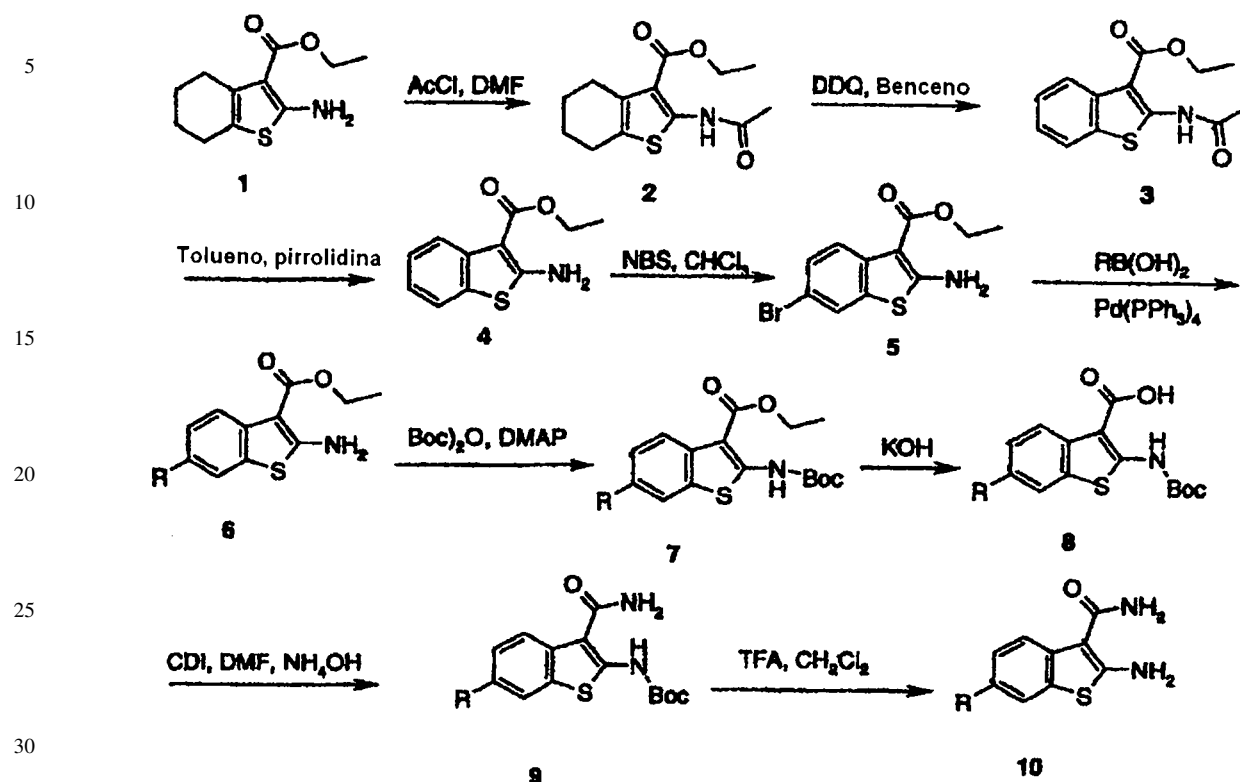
Procedimientos de preparación

Los siguientes procedimientos y ejemplos pretenden ser ilustrativos de la presente invención pero no en un sentido limitante.

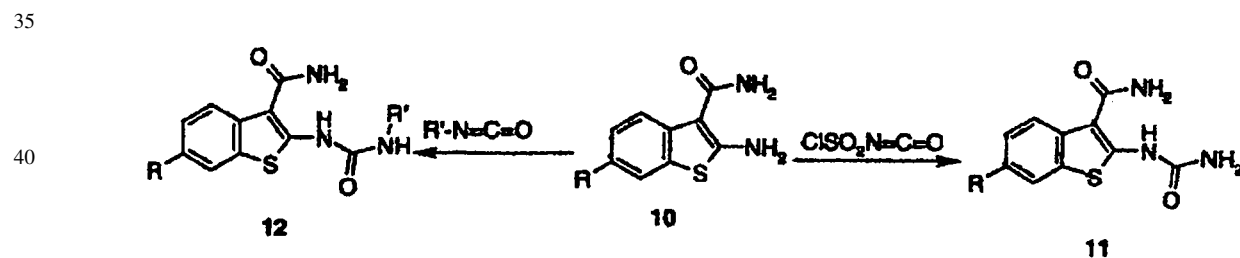
La preparación general de análogos de amida del ácido 2-aminobenzotiofeno-3-carboxílico se muestra en el Esquema I.

La síntesis comienza con 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzotiofeno-3-carboxilato de etilo (1) disponible en el mercado. La protección del grupo amino con cloruro de acetilo (AcCl) y la oxidación con 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) proporcionan benzotiofeno 3. La desprotección de la acetamida seguido de bromación con N bromosuccinimida (NBS) producen 2-aminobenzotiofeno 5. El acoplamiento cruzado de Suzuki mediado por paladio (0) con ácido/éster bordenico dio después 6. La reprotención del grupo amino con dicarbonato de di-terc-butilo [(Boc)₂O] y la hidrólisis del grupo éster produce el ácido 8. El ácido resultante se activa con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), seguido de reacción con hidratió de amonio y tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA) produjo después amida del ácido 2-amino-benzotiofeno-3-carboxílico 10. El compuesto 10 puede transformarse fácilmente en urea primaria 11 por reacción con isocianato de clorosulfonilo o en urea sustituida 12 mediante isocianatos (Esquema II).

Esquema I

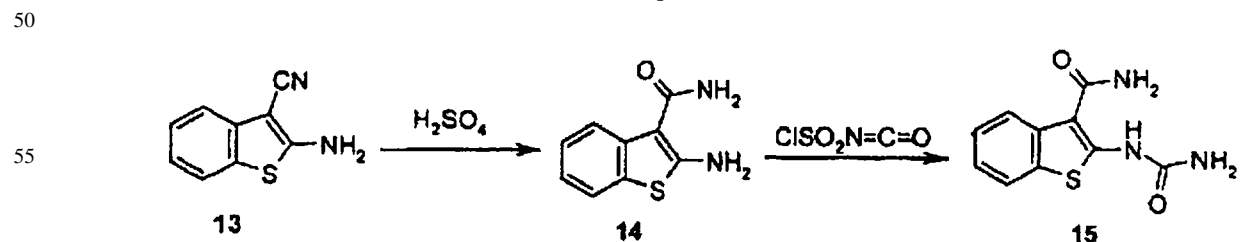


Esquema II



La urea 15 se sintetiza a partir de 2-amino-benzo[b]tiofeno-3-carbonitrilo (13, Esquema III) empleando un procedimiento de dos etapas; hidrólisis de nitrilo seguido de urea formación.

Esquema III



Los siguientes ejemplos pretenden ser ilustrativos de la presente invención pero no limitantes de ninguna forma.

Ejemplos y parte experimental

65 General

Los espectros de resonancia magnética nuclear se registraron a 250, 300 o 400 MHz usando, respectivamente, un espectrómetro Bruker AM 250, Bruker ARX 300 o Bruker AC 400. CDCl_3 es deuteriocloroformo, DMSO-d_6

ES 2 285 125 T3

es hexadeuteriodimetilsulfóxido, y CD₃OD es tetradeuteriometanol. Los desplazamientos químicos se presentan en partes por millón (d) campo abajo respecto al patrón interno de tetrametilsilano. Las abreviaturas para los datos de RMN data son de la siguiente manera: s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuádruplete, m = multiplete, dd = doblete de dobletes, dt = doblete de tripletes, ap = aparente, a = ancho. J indica la constante de acoplamiento de RMN medida en Hertz. Los espectros de infrarrojo (IR) de onda continua se registraron en un espectrómetro de infrarrojo Perkin-Elmer 683, y los espectros de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) se registraron en un espectrómetro de infrarrojo Nicolet Impact 400 D. Los espectros IR y FTIR se registraron en modo transmisión, y las posiciones de banda se presentan en números de onda a la inversa (cm⁻¹). Los espectros de masas se tomaron en un instrumento VG 70 FE, PE Syx API III, o VG ZAB HF, usando técnicas de ionización por bombardeo con átomos rápidos (FAB) o electronebulización (ES). Los análisis elementales se obtuvieron usando un analizador elemental Perkin-Elmer 240C. Los puntos de fusión se tomaron en un aparato de punto de fusión Thomas-Hoover y están sin corregir. Todas las temperaturas se presentan en grados Celsius.

Se usaron placas de capa fina Analtech Silica Gel GF y E. Merck Silica Gel 60 F-254 para cromatografía en capa fina. Se realizaron cromatografía ultrarrápida y por gravedad en gel de sílice E. Merck Kieselgel 60 (malla 230-400).

Cuando se indica, ciertos materiales se adquirieron en Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin, TCI America, Portland, OR.

20 Ejemplo 1

Preparación de amida del ácido 2-amino-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

1a) Éster etílico del ácido 2-acetilamino-4, 5, 6, 7-tetrahidrobenzotiofeno-3-carboxílico

25 A una solución de 2-amino-4, 5, 6, 7-tetrahidrobenzotiofeno-3-carboxilato de etilo (16 g, 71,1 mmol) en THF (100 ml) se le añadió 4-(dimetilamino)piridina (434 mg, 3,55 mmol) y cloruro de acetilo (6,1 ml, 85,3 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la solución se diluyó con solución de salmuera (500 ml) y se extrajo con acetato de etilo (500 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron proporcionando el compuesto del título (18,3 g, 96%) en forma de un sólido amarillo claro: EM (EN) m/z 268 (M+H)⁺.

1b) Éster etílico del ácido 2-acetilamino-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

35 Una solución de 1a (3,0 g, 11,24 mmol) en benceno (100 ml) se mezcló con 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (3,8 g, 16,85 mmol). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 2 h, se diluyó con solución saturada de NaHCO₃ (300 ml) y se extrajo con acetato de etilo (300 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 8:1) proporcionó después el compuesto del título (1,06 g, 35%) en forma de un sólido amarillo: EM (EN) m/z 264 (M+H)⁺;

1c) Éster etílico del ácido 2-Amino-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

45 A una solución de 1b (1,06 g, 4,03 mmol) en tolueno (100 ml) se le añadió pirrolidina (5 ml). La mezcla resultante se calentó a 100°C durante 8 h, se diluyó con salmuera solución (200 ml) y se extrajo con éter etílico (300 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 4:1) dio después el compuesto del título (0,76 g, 85%) en forma de un sólido amarillo: EM (EN) m/z 222 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,14 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,53 (d, J = 7,2 Hz, 1 H), 7,28 (m, 1 H), 7,04 (m, 1 H), 6,51 (s, a, 2 H), 4,45 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,50 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

1d) Éster etílico del ácido 2-amino-6-bromo-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

50 A una solución de 1c (760 mg, 3,44 mmol) en CHCl₃ (10 ml) se le añadió N-bromosuccinimida (673 mg, 3,78 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 1 h, después se mezcló con solución saturada de NaHCO₃ (100 ml), y se extrajo con cloruro de metileno (100 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 4:1) proporcionó después el compuesto del título (930 mg, 90%) en forma de un sólido amarillo: EM (EN) m/z 300 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,96 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,63 (s, 1 H), 7,42 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,52 (s, a, 2 H), 4,42 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,48 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

1e) Éster etílico del ácido 2-amino-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

60 A una solución de 1d (200 mg, 0,67 mmol) en 1,4-dioxano/agua (40 ml, 3:1) se le añadió ácido 4-fluorofenilbórico (209 mg, 1,34 mmol), NaHCO₃ (225 mg, 2,68 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (Pd al 9%, 79 mg, 0,067 mmol). La mezcla resultante se calentó a 110°C durante 1 h, se diluyó con solución de salmuera (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 4:1) proporcionó después el compuesto del título (190 mg, 90%) en forma de un aceite rosa

ES 2 285 125 T3

pegajoso: EM (EN) m/z 316 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,16 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,69 (s, 1H), 7,62 (m, 2 H), 7,50 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,15 (m, 2 H), 6,5 8 (s a, 2 H), 4,46 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,50 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

5 1f) Éster etílico del ácido 2-terc-butoxicarbonilamino-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

A una solución de 1e (190 mg, 0,603 mmol) en THF (10 ml) se le añadió 4-(dimetilamino)piridina (7,4 mg, 0,06 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (158 mg, 0,724 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, se diluyó con salmuera solución (50 ml), y se extrajo con acetato de etilo (50 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 4:1) proporcionó después el compuesto del título (200 mg, 80%) en forma de un sólido amarillo: EM (EN) m/z 416-(M+H)⁺.

15 1g) Ácido 2-terc-butoxicarbonilamino-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

Una solución de 1f (80 mg, 0,193 mmol) en etanol/agua (1:1, 10 ml) se mezcló con KOH (21,6 mg, 0,39 mmol). La mezcla resultante se calentó a 60°C durante 1 h, se diluyó con HCl (30 ml, IN), y se extrajo con acetato de etilo (30 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (62 mg, 84%) en forma de un sólido blanco: EM (EN) m/z 388 (M+H)⁺.

20 1h) Éster terc-butílico del ácido [3-carbamoil-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-2-il]-carbámico

A una solución de 1g (150 mg, 0,38 mmol) en DMF (3 ml) se le añadió 1,1'-carbonildiimidazol (125 mg, 0,78 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se mezcló con hidranión de amonio (37%, 5 ml). La mezcla se diluyó con solución de salmuera (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (20 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 1:1) proporcionó después el compuesto del título (48 mg, 32%) en forma de un sólido blanco: EM (EN) m/z 387 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 11,14 (s, 1 H), 7,94 (s, 1 H), 7,85 (d, J = 4,4 Hz, 1 H), 7,61 (m, 3 H), 7,18 (m, 2 H), 5,87 (s a, 2 H), 1,59 (s, 9H).

30 1i) Amida del ácido 2-amino-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

Una solución de 1h (20 mg, 0,051 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml) se mezcló con ácido trifluoroacético (0,5 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se mezcló con solución saturada de NaHCO₃ (30 ml), y se extrajo con acetato de etilo (30 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 1:1) proporcionó el compuesto del título (8 mg, 55%) en forma de un sólido blanco: EM (EN) m/z 287 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,73 (s, 1 H), 7,63-7,50 (m, 3 H), 7,42 (m, 1 H), 7,08 (m, 2 H).

40 Ejemplo 2

Preparación de amida del ácido 2-ureido-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

45 2a) Amida del ácido 2-amino-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

Una solución de 2-amino-benzo[b]tiofeno-3-carbonitrilo (50 mg, 0,29 mmol) en H₂SO₄ concentrado (1,5 ml) se calentó a 60°C durante 2 h. La solución se vertió en agua enfriada con hielo (5 ml), se mezcló con solución saturada NaHCO₃ (30 ml), y se extrajo con acetato de etilo (30 ml, 3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (hexanos/acetato de etilo, 1:1) proporcionó después el compuesto del título (23 mg, 41%) en forma de un sólido blanco: EM (EN) m/z 193 (M+H)⁺.

50 2b) amida del ácido 2-ureido-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico

A la mezcla de 2a (20 mg, 0,104 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se le añadió isocianato de clorosulfonilo (15 μl, 0,15 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se mezcló con agua (0,5 ml). La separación mediante una HPLC de fase inversa proporcionó el compuesto del título (10 mg, 40%) en forma de un sólido blanco: EM (EN) m/z 236 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,77 (s, 1 H), 7,84 (m, 2 H), 7,56 (s a, 3 H), 7,20 (m, 1 H), 7,08 (m, 1 H), 6,98 (s a, 1H).

60 Esta invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Por consiguiente, los compuestos de Fórmula I pueden usarse para fabricar un medicamento. Las composiciones farmacéuticas de los compuestos de Fórmula I preparadas como se ha descrito anteriormente en este documento pueden formularse como soluciones o polvos liofilizados para administración parenteral. Los polvos pueden reconstituirse mediante la adición de un diluyente adecuado u otro vehículo farmacéuticamente aceptable antes de su uso. La formulación líquida puede ser una solución acuosa tamponada, isotónica. Los ejemplos de diluyentes adecuados son solución salina isotónica normal, patrón de dextrosa al 5% en agua o solución tamponada de acetato sódico o de amonio. Dicha formulación es especialmente adecuada para administración parenteral, aunque puede usarse también para administración oral o contenida en un inhalador o

ES 2 285 125 T3

nebulizador de dosis medida para insuflación. Puede ser deseable añadir excipientes tales como polivinilpirrolidona, gelatina, hidroxil celulosa, goma arábica, polietilenglicol, manitol, cloruro sódico o citrato sódico.

5 Como alternativa, estos compuestos pueden encapsularse, comprimirse o prepararse en una emulsión o jarabe para administración oral. Pueden añadirse vehículos sólidos o líquidos farmacéuticamente aceptables para potenciar o estabilizar la composición, o para facilitar la preparación de la composición. Los vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato cálcico dihidrato, terra alba, magnesio estearato o ácido esteárico, talco, pectina, goma arábica, agar o gelatina. Los vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. El vehículo puede incluir también un material de liberación sostenida tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera. La cantidad de vehículo sólido varía aunque, preferiblemente, estará entre aproximadamente 20 mg a aproximadamente 1 g por unidad de dosificación. Las preparaciones farmacéuticas se preparan siguiendo técnicas farmacéuticas convencionales que implican molienda, mezcla, granulación, y compresión, cuando sea necesario, para formas de comprimido; o molienda, mezcla y llenado para formas de cápsula de gelatina duras. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación estará en forma de un jarabe, elixir, emulsión o una suspensión acuosa o no acuosa. 15 Dicha formulación líquida puede administrarse directamente p.o. o llenarse en una cápsula de gelatina blanda.

Las composiciones típicas para inhalación están en forma de un polvo seco, solución, suspensión o emulsión. La administración puede ser, por ejemplo, mediante un inhalador de polvo seco (tal como un inhalador de dosis única o de múltiples dosis, por ejemplo como se describe en la Patente de Estados Unidos 5590645 o por nebulización o en forma de un aerosol a presión. Las composiciones de polvo seco típicamente emplean un vehículo tal como lactosa, trehalosa o almidón. Las composiciones para nebulización típicamente emplean agua como vehículo. Los aerosoles a presión típicamente emplean un propulsor tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano o, más preferiblemente, 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano o mezclas de los mismos. Las formulaciones de aerosol a presión pueden estar en forma de una solución (empleando quizás un agente de solubilización tal como etanol) o una suspensión que puede estar libre de excipiente o que emplea excipientes incluyendo tensioactivos y/o co-disolventes (por ejemplo, etanol). En las composiciones de polvo seco y composiciones de aerosol en suspensión el ingrediente activo preferiblemente será de un tamaño adecuado para inhalación (que típicamente tiene un diámetro másico medio (MMD) menor de 20 micrómetros por ejemplo 1-10 especialmente 1-5 micrómetros). La reducción de tamaño del ingrediente activo puede ser necesaria, por ejemplo, por micronización. 30

Las composiciones de aerosol a presión generalmente se llenarán en bombonas equipadas con una válvula, especialmente una válvula de medida. Las bombonas pueden recubrirse opcionalmente con un material plástico, por ejemplo un polímero de fluorocarbono como se describe en el documento WO 96/32150. Las bombonas se ajustarán en un accionador adaptado para suministro bucal. 35

Las composiciones típicas para suministro nasal incluyen aquellas mencionadas anteriormente para inhalación y que incluyen adicionalmente composiciones no presurizadas en forma de una solución o suspensión en un vehículo inerte tal como agua opcionalmente junto con excipientes convencionales tales como tampones, anti-microbianos, agentes modificadores de la tonicidad y agentes modificadores de la viscosidad que pueden administrarse mediante una bomba nasal. 40

Para administración rectal, los compuestos de esta invención pueden combinarse también con excipientes tales como manteca de cacao, glicerina, gelatina o polietilenglicoles y moldearse en un supositorio.

45 Los procedimientos de la presente invención incluyen administración tópica, inhalada e intracolónica de los compuestos de Fórmula I. Por administración tópica se entiende administración no sistémica, incluyendo la aplicación de un compuesto de la invención externamente a la epidermis, a la cavidad bucal e instilación de dicho compuesto en el oído, el ojo y la nariz, en el que el compuesto no entra significativamente en el torrente sanguíneo. Por administración sistémica se entiende administración oral, intravenosa, intraperitoneal e intramuscular. La cantidad de un compuesto de la invención (denominado posteriormente en este documento ingrediente activo) necesaria para el efecto terapéutico o profiláctico tras la administración tópica variará, por supuesto, con el compuesto elegido, la naturaleza y gravedad del estado a tratar y el animal que experimenta el tratamiento, y finalmente está a discreción del médico. 50

Aunque es posible administrar un ingrediente activo solo como el compuesto químico bruto, es preferible presentarlo como una formulación farmacéutica. El ingrediente activo puede comprender, para administración tópica, del 0,01 al 5,0% en peso de la formulación. 55

Las formulaciones tópicas de la presente invención, tanto para uso veterinario y para medicina humana, comprenden un ingrediente activo junto con uno o más vehículos aceptables para las mismas y opcionalmente cualquier otro ingrediente terapéutico. El vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el destinatario de la misma. 60

Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semi-líquidas adecuadas para penetración a través de la piel al sitio donde se necesita el tratamiento tales como: linimentos, lociones, cremas, pomadas o pastas, y gotas adecuadas para administración al ojo, oído o nariz. 65

Las gotas de acuerdo con la presente invención pueden comprender soluciones o suspensiones acuosas u oleosas estériles y pueden prepararse disolviendo el ingrediente activo en una solución acuosa adecuada de un agente bacteri-

cida y/o fungicida y/o cualquier otro conservante adecuado, e incluyendo preferiblemente un agente tensioactivo. La solución resultante puede aclararse después por filtración, transferirse a un recipiente adecuado, que se sella después y esteriliza en un autoclave, o manteniéndolo a 90-100°C durante media hora. Como alternativa, la solución puede esterilizarse por filtración y transferirse al recipiente mediante una técnica aséptica. Los ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas adecuados para inclusión en las gotas son nitrato o acetato fenilmercurio (0,002%), cloruro de benzalco-
 5 y fungicidas adecuados para inclusión en las gotas son nitrato o acetato fenilmercurio (0,002%), cloruro de benzalco-
 nio (0,01%) y acetato de clorhexidina (0,01%). Los disolventes adecuados para la preparación de una solución oleosa incluyen glicerol, alcohol diluido y propilenglicol.

Las lociones de acuerdo con la presente invención incluyen aquellas adecuadas para aplicación a la piel o al ojo.
 10 Una loción para el ojo puede comprender una solución acuosa estéril que opcionalmente contiene un bactericida y puede prepararse mediante procedimientos similares a los de la preparación de gotas. Las lociones o linimentos para aplicación a la piel pueden incluir también un agente para acelerar el secado y refrigerar la piel, tal como un alcohol o acetona, y/o un humectante tal como glicerol o un aceite tal como aceite de ricino o aceite de cacahuete.

Las cremas, pomadas o pastas de acuerdo con la presente invención son formulaciones semi-sólidas del ingrediente activo para aplicación externa. Pueden prepararse mezclando el ingrediente activo en forma finamente dividida o de polvo, solas o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con ayuda de la maquinaria adecuada, con una base grasa o no grasa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, blanda o líquida, glicerol, cera de abejas, un jabón metálico, un mucílago, un aceite de origen natural tal como aceite de almendra, maíz, cacahuete, ricino o de oliva, lanolina o sus derivados, o un ácido graso tal como ácido esteárico u oleico junto con un alcohol tal como propilenglicol o macrogoles. La formulación puede incorporar cualquier agente tensioactivo adecuado tal como un agente tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico tal como ésteres de sorbitán o derivados polioxietileno de los mismos. Pueden incluirse también agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales orgánicos tales como sílices silíceas, y otros ingredientes tales como lanolina.

25 **Utilidad de la presente invención**

Los compuestos de Fórmula I son útiles como inhibidores de la fosforilación por IKK-beta quinasa de I κ B y, como tales, son inhibidores de la activación de NF- κ B. El presente procedimiento utiliza composiciones y formulaciones de dichos compuestos, incluyendo composiciones farmacéuticas y formulaciones de dichos compuestos.

La presente invención proporciona particularmente procedimientos de tratamiento de enfermedades asociadas con la activación inapropiada de NF- κ B, comprendiendo dichos procedimientos administrar a un animal, particularmente un mamífero, más particularmente un ser humano en necesidad del mismo uno o más compuestos de Fórmula I. La presente invención proporciona particularmente procedimientos para tratar trastornos inflamatorios y de reparación de tejido, particularmente artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, asma y COPD (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) osteoartritis, osteoporosis y enfermedades fibróticas; dermatosis, incluyendo psoriasis, dermatitis atópica y lesión cutánea inducida por radiación ultravioleta (UV), enfermedades autoinmunes incluyendo lupus sistémico eritematoso, esclerosis múltiple, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, rechazo de órganos y tejidos, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, aterosclerosis, reestenosis, diabetes, glomerulonefritis, cáncer, incluyendo enfermedad de Hodgkins, caquexia, inflamación asociada con infección y ciertas infecciones virales, incluyendo síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), síndrome de disneico agudo en adultos y ataxia telangiectasia.

Para terapia aguda, es útil la administración parenteral de uno o más compuestos de Fórmula I. Una infusión intravenosa del compuesto en dextrosa al 5% en agua o solución salina normal, o una formulación similar con los excipientes adecuados, es más eficaz, aunque una inyección en embolada intramuscular también es útil. Típicamente, la dosis parenteral será de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg; preferiblemente entre 0,1 y 20 mg/kg, de una manera para mantener la concentración de fármaco en el plasma a una concentración eficaz para inhibir IKK-beta y por lo tanto la activación de NF- κ B. Los compuestos se administran de una a cuatro veces al día a una dosis total de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 80 mg/kg/día. La cantidad precisa de un compuesto usada en el presente procedimiento que es terapéuticamente eficaz, y la vía mediante la que se administra dicho compuesto, la determina fácilmente un especialista en la técnica comparando el nivel en sangre del agente respecto a la concentración requerida para que tenga un efecto terapéutico.

Los compuestos de Fórmula I pueden administrarse también por vía oral al paciente, de una manera tal que la concentración de fármaco es suficiente para inhibir IKK-beta y por lo tanto la activación de NF- κ B o para conseguir cualquier otra indicación terapéutica como se describe en este documento. Típicamente, una composición farmacéutica que contiene el compuesto se administra a una dosis oral de entre aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg/kg de una manera consistente con el estado del paciente. Preferiblemente la dosis oral sería de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 mg/kg.

Los compuestos de Fórmula I pueden administrarse también por vía tópica al paciente, de una manera tal que la concentración de fármaco sea suficiente para inhibir IKK-beta y por lo tanto la activación de NF- κ B o conseguir cualquier otra indicación terapéutica como se describe en este documento. Típicamente, una composición farmacéutica que contiene el compuesto se administra en una formulación tópica de entre aproximadamente 0,01% a aproximadamente 5% p/p.

No se esperan efectos toxicológicos inaceptables cuando los compuestos de la presente invención se administran de acuerdo con la presente invención.

La capacidad de los compuestos descritos en este documento para inhibir la activación del NF- κ B se pone claramente de manifiesto en su capacidad para inhibir la fosforilación del fragmento N-terminal de I κ B- α mediante IKK- β (véase la Tabla 1 para ejemplos). Estos compuestos bloquean también la degradación de I κ B- α y la translocación nuclear del NF- κ B en monocitos humanos y otras células de mamífero tras la activación de las células con estímulos pro-inflamatorios (por ejemplo, TNF- α , LPS, etc.). Además estos compuestos inhiben la producción del mediador pro-inflamatorio a partir de monocitos humanos estimulados con LPS y fibroblastos sinoviales primarios humanos estimulados. La utilidad de los presentes inhibidores de NF- κ B en la terapia de enfermedades se basa en la importancia de la activación del NF- κ B en diversas enfermedades.

El NF- κ B desempeña un papel clave en la expresión regulada de un gran número de mediadores pro-inflamatorios incluyendo citoquinas tales como TNF, IL-1 β , IL-6 y IL-8 (Mukaida *et al.*, 1990; Liberman y Baltimore, 1990; Matsusaka *et al.*, 1993), moléculas de adhesión celular, tales como ICAM y VCAM (Marui *et al.*, 1993; Kawai *et al.*, 1995; Ledebur y Parks, 1995), y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) (Xie *et al.*, 1994; Adcock *et al.*, 1994). (Las referencias citadas completas se dan al final de esta sección). Se sabe que dichos mediadores desempeñan un papel en el reclutamiento de leucocitos en los sitios de inflamación y en el caso de iNOS, pueden conducir a la destrucción del órgano en algunas enfermedades inflamatorias y autoinmunes (McCartney-Francis *et al.*, 1993; Kleemann *et al.*, 1993).

La evidencia de un papel importante del NF- κ B en trastornos inflamatorios se obtiene en estudios de pacientes asmáticos. Las biopsias bronquiales tomadas de asmáticos atópicos muestran aumentos significativos en el número de células en la submucosa teñidas para NF- κ B activado, NF- κ B total, y citoquinas reguladas por NF- κ B tales como GM-CSF y TNF α comparadas con biopsias de controles no atópicos normales (Wilson *et al.*, 1998). Adicionalmente, el porcentaje de vasos que expresan inmunoreactividad a NF- κ B aumenta al igual que la inmunoreactividad a IL-8 en el epitelio de las muestras de la biopsia (Wilson *et al.*, 1998). Como tal, la inhibición de la producción de IL-8 mediante la inhibición de NF- κ B, como han demostrado estos compuestos, se predice que será beneficiosa en la inflamación de las vías respiratorias.

Estudios recientes sugieren que el NF- κ B puede desempeñar también un papel crítico en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria del intestino (IBD). El NF- κ B activado se observa en muestras de biopsia de colon de pacientes con enfermedad de Chron y colitis ulcerosa (Ardite *et al.*, 1998; Rogler *et al.*, 1998; Schreiber *et al.*, 1998). La activación es evidente en la mucosa inflamada pero no en la mucosa no inflamada (Ardite *et al.*, 1998; Rogler *et al.*, 1998) y está asociada con el aumento de la expresión de ARNm de IL-8 en los mismos sitios (Ardite *et al.*, 1998). Adicionalmente, el tratamiento con corticoesteroides inhibe en gran medida la activación intestinal del NF- κ B y reduce la inflamación del colon (Ardite *et al.*, 1998; Schreiber *et al.*, 1998). De nuevo, la inhibición de la producción de IL-8 mediante la inhibición de NF- κ B, como han demostrado estos compuestos, se predice que será beneficiosa en la enfermedad inflamatoria del intestino.

Los modelos animales de inflamación gastrointestinal proporcionan soporte adicional para el NF- κ B como regulador clave de la inflamación del colon. Se observa un aumento de la actividad del NF- κ B en la lámina propia de macrófagos en colitis inducida por ácido 2,4,6,-trinitrobenzenosulfónico (TNBS) en ratones, siendo p65 el componente principal de los complejos activados (Neurath *et al.*, 1996; Neurath y Pettersson, 1997). La administración local de p65 antisentido aboga las señales de colitis establecidas en los animales tratados sin indicios de toxicidad (Neurath *et al.*, 1996; Neurath y Pettersson, 1997). Como tal, podría predecirse que los inhibidores de molécula pequeña de NF- κ B serán útiles en el tratamiento de IBD.

La evidencia adicional del papel del NF- κ B en trastornos inflamatorios procede de estudios de sinovio reumatoide. Aunque el NF- κ B normalmente está presente en forma de un complejo citoplásmico inactivo, recientes estudios inmunohistoquímicos han indicado que el NF- κ B está presente en los núcleos y, por lo tanto, activo, en las células que comprenden el sinovio reumatoide humano (Handel *et al.*, 1995; Marok *et al.*, 1996; Sioud *et al.*, 1998) y en modelos animales de la enfermedad (Tsao *et al.*, 1997). La tinción está asociada con sinoviocitos de tipo A y endotelio vascular (Marok *et al.*, 1996). Adicionalmente, se observa la activación constitutiva del NF- κ B en sinoviocitos cultivados (Roshak *et al.*, 1996; Miyazawa *et al.*, 1998) y en cultivos de células sinoviales estimuladas con IL-1 β o TNF α (Roshak *et al.*, 1996; Fujisawa *et al.*, 1996; Roshak *et al.*, 1997). De esta manera, la activación del NF- κ B puede sustentar el aumento de la producción de citoquinas e infiltración de leucocitos características del sinovio inflamado. La capacidad de estos compuestos para inhibir el NF- κ B y, por lo tanto, para inhibir la producción de mediadores pro-inflamatorios (por ejemplo, citoquinas y prostanoïdes) mediante estas células se predeciría para producir beneficios en artritis reumatoide.

Ensayos Biológicos

Los compuestos de esta invención pueden ensayarse en uno de los diversos ensayos biológicos para determinar la concentración de compuesto, que es necesaria para tener un efecto farmacológico dado.

La actividad del NF- κ B puede medirse también en un ensayo de desplazamiento de movilidad electroforética (EMSA) para evaluar la presencia de proteínas NF- κ B en el núcleo. Las células de interés se cultivan a una densidad

ES 2 285 125 T3

de 1×10^6 /ml Las células se recuperan por centrifugación, se lavan en PBS sin Ca^{2+} y Mg^{2+} y se resuspenden en PBS con Ca^{2+} y Mg^{2+} a 1×10^7 células/ml. Para examinar el efecto del compuesto sobre la activación de NF- κ B, las suspensiones celulares se tratan con diversas concentraciones de fármaco o vehículo (DMSO, 0,1%) durante 30 min. a 37°C antes de la estimulación con TNF- α (5,0 ng/ml) durante 15 min. más. Los extractos celulares y nucleares se preparan de la siguiente manera. Brevemente, al final del periodo de incubación las células (1×10^7 células) se lavan 2x en PBS sin Ca^{2+} y Mg^{2+} . Los sedimentos celulares resultantes se resuspenden en $20 \mu\text{l}$ de Tampón A (Hepes 10 mM (pH 7,9), KCl 10 mM, MgCl_2 1,5 mM, ditioneitol 0,5 mM (DTT) y NP-40 al 0,1%) y se incubaron en hielo durante 10 min. Los núcleos sedimentan por microcentrifugación a 3500 rpm durante 10 min a 4°C . El sobrenadante resultante se recogió como el extracto celular y el sedimento nuclear se resuspendió en $15 \mu\text{l}$ de Tampón C (Hepes 20 mM (pH 7,9), NaCl 0,42 M, MgCl_2 1,5 mM, glicerol al 25%, EDTA 0,2 mM, DTT 0,5 mM, y fluoruro de fenilmetilsulfonilo 0,5 mM (PMSF)). Las suspensiones se mezclan suavemente durante 20 min a 4°C y después se microcentrifugan a 14.000 rpm durante 10 min a 4°C . El sobrenadante se recoge y se diluye a $60 \mu\text{l}$ con Tampón D (Hepes 20 mM (pH 7,9), KCl 50 mM, glicerol al 20%, EDTA 0,2 mM, DTT 0,5 mM, y PMSF 0,5 mM). Todas las muestras se almacenan a -80°C hasta que se analizan. La concentración de proteínas de los extractos se determina de acuerdo con el procedimiento de Bradford (Bradford, 1976) con reactivos BioRad.

El efecto de los compuestos sobre la activación del factor de transcripción se evalúa en un ensayo de desplazamiento de movilidad electroforética (EMSA) usando extractos nucleares a partir de células tratadas como se ha descrito anteriormente. Los oligonucleótidos consenso de doble hebra de NF- κ B ($5'$ -AGTTGAGGGGACTTCCCCAGGC- $3'$) se marcan con polinucleótido quinasa T₄ y [g - ^{32}P]ATP. La mezcla de unión ($25 \mu\text{l}$) contiene Hepes 10 mM-NaOH (pH 7,9), Tris-HCl 4 mM (pH 7,9), KCl 60 mM, EDTA 1 mM, ditioneitol 1 mM, glicerol al 10%, 0,3 mg/ml de albúmina de suero bovino, y $1 \mu\text{g}$ de poli(dl-dC) · poli(dl-dC). Las mezclas de unión ($10 \mu\text{g}$ de proteínas de extracto nuclear) se incuban durante 20 min a temperatura ambiente con 0,5 ng de oligonucleótido marcado con ^{32}P (50.000-100.000 cpm) en presencia o ausencia de competidor no marcado después de cargar la mezcla en un gel de poli(acrilamida) al 4% preparado en 1X Tris borato/EDTA y se somete a electroforesis a 200 V durante 2 h. Después de la electroforesis los geles se secan y se exponen a película para detectar la reacción de unión.

El efecto de los compuestos sobre la fosforilación de I κ B puede controlarse en una transferencia de Western. Los extractos celulares se someten a electroforesis en dodecil sulfato sódico-gel de poli(acrilamida) (SDS-PAGE) sobre geles al 10% (BioRad, Hercules, CA) y las proteínas se transfirieron a hojas de nitrocelulosa (Hybondtm-ECL, Amersham Corp., Arlington Heights, IL). Los ensayos de inmunotransferencia se realizan usando un anticuerpo de conejo policlonal dirigido contra I κ B α o I κ B β seguido de un anticuerpo secundario anti-conejo de mono conjugado con peroxidasa (Amersham Corp., Arlington Heights, IL). Las bandas inmunoreactivas se detectan usando el sistema de ensayo de Quimioluminiscencia Potenciada (ECL) (Amersham Corp., Arlington Heights, IL).

Los ensayos para quinasas I κ B se realizaron de la siguiente manera: IKK- α se expresó como una proteína marcada con hexa-histidina en células de insecto infectadas con baculovirus y se purificó en una columna de afinidad de Ni-NTA. La actividad quinasa se ensayó usando 50 ng de proteínas purificadas en tampón de ensayo (Hepes 20 mM, pH 7,7, MgCl_2 2 mM, MnCl_2 1 mM, β -glicerofosfato 10 mM, NaF 10 mM, PNPP 10 mM, Na_3VO_4 0,3 mM, benzamidina 1 mM, PMSF $2 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{g/ml}$ de aprotinina, $1 \mu\text{g/ml}$ de leupeptina, $1 \mu\text{g/ml}$ de pepstatina, DTT 1 mM) que contiene diversas concentraciones de compuesto o vehículo DMSO y ATP según se indica (Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ). La reacción comenzó mediante la adición de 200 ng de I κ B-GST (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA), en un volumen total de $50 \mu\text{l}$. Se permitió que la reacción transcurriera durante 1 h. a 30°C después de que la reacción terminara mediante la adición de EDTA a una concentración final de 20 mM. La actividad quinasa se determinó mediante inmunoensayo de fluorescencia de lantánido potenciado por disociación (Wallac Oy, Turku, Finland) usando un anticuerpo phos-pho-I κ B- α (Ser32) (New England Biolabs, Inc., Beverly, MA) y una IgG anti-conejo marcada con Eu^{3+} (Wallac Oy, Turku, Finland). Las placas se leyeron en un Contador VICTOR 1420 Multilabel (Wallac), usando un protocolo convencional con europio (excitación a 340 nm, emisión a 615 nm; fluorescencia medida durante $400 \mu\text{s}$ después de un retraso de 400 Ms). Los datos se expresan como unidades de fluorescencia (cps).

La IKK- β se expresó como una proteína marcada con GST, y su actividad se evaluó en un ensayo de centelleo por proximidad (SPA) de 96 pocillos. Brevemente, se diluyó IKK- β en tampón de ensayo como se ha descrito anteriormente (20 nM final), con diversas concentraciones de compuesto o vehículo DMSO, ATP 240 nM y 200 nCi [g - ^{33}P]-ATP (10 mCi/ml, 2000 Ci/mmol; NEN Life Science Products, Boston, MA). La reacción se inició con la adición de un péptido biotinilado compuesto por los aminoácidos 15 - 46 de I κ B- α (American Peptide) a una concentración final de $2,4 \mu\text{M}$, en un volumen total de $50 \mu\text{l}$. La muestra se incubó durante una hora a 30°C , seguido de la adición de $150 \mu\text{l}$ de tampón de parada (PBS sin Ca^{2+} , Mg^{2+} , Triton X-100 al 0,1% (v/v), EDTA 10 mM) que contiene 0,2 mg de perlas de SPA PVT recubiertas con estreptavidina (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). La muestra se mezcló, se incubó durante 10 min. a temperatura ambiente, se centrifugó (1000 xg, 2 minutos), y se midió en un contador Hewlett-Packard TopCount.

Además, la actividad de IKK- β o IKK- α se mide mediante la fosforilación de GST-IkappaBalfa recombinante usando transferencia de energía de resonancia por fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET) en placas de microtitulación de 384 pocillos. Brevemente, IKK- β o IKK- α se diluyen en tampón de ensayo (HEPES 50 mM, pH 7,4 que contiene cloruro de magnesio 10 mM, CHAPS 1 mM, DTT 1 mM y BSA al 0,01% p/v) a una concentración final de 5 nM. Esto se añade a diversas concentraciones de compuesto o vehículo DMSO y la reacción se inicia mediante la adición de GST-IkappaBalfa 25 nM y ATP $1 \mu\text{M}$ en tampón de ensayo hasta un volumen de $30 \mu\text{l}$. Después de

ES 2 285 125 T3

la incubación durante 30 min a temperatura ambiente la reacción se detuvo mediante la adición de EDTA 50 mM pH 7,4 (15 μ l). La detección del producto fosforilado se consiguió mediante la adición de un anticuerpo monoclonal anti-fosfoserina específico marcado con quelato de europio LANCE a una concentración final de 0,5 nM (Tecnología de señalización celular mediante Perkin Elmer) y anticuerpo anti-GST marcado con alofococianina a una concentración final de 10 nM (Prozyme) dando un volumen final de 60 μ l. Después de una incubación adicional a temperatura ambiente de al menos 30 min la señal se leyó en un fluorímetro Perkin Elmer Discovery.

El efecto de los inhibidores de IKK- β sobre la producción del mediador de fibroblasto sinovial primario se evaluó de la siguiente manera: se obtuvieron cultivos primarios de RSF humano por digestión enzimática de sinovio obtenido de pacientes adultos con artritis reumatoide como se ha descrito anteriormente (Roshak *et al.*, 1996). Las células se cultivaron en Medio Esencial Mínimo de Earl (EMEM) que contenía suero bovino fetal (FBS) al 10%, 100 unidades/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomycin (GIBCO, Grand Island, NY), a 37°C y CO₂ al 5%. Los cultivos se usaron en los pasos 4 a 9 para obtener una población de fibroblasto de tipo B más uniforme. Para algunos estudios, los fibroblastos se pusieron a 5 x 10⁴ células/ml en placas de 24 pocillos de 16 mm (diámetro) (Costar, Cambridge, MA). Las células (confluencia del 70-80%) se expusieron a IL-1 β (1 ng/ml) (Genzima, Cambridge, MA) durante el tiempo indicado. Los fármacos en vehículo DMSO (1%) se añadieron a los cultivos celulares 15 minutos antes de la adición de IL-1. Se realizaron estudios 3-4 veces usando células sinoviales de diferentes donantes. Se prepararon extractos celulares de RSF a partir de células tratadas como se ha descrito anteriormente. Brevemente, se retiraron RSF humanos mediante tripsina/EDTA, se lavaron, y recogieron por centrifugación. Se prepararon extractos celulares como se ha descrito anteriormente (Dignam *et al.*, 1983; Osborn, *et al.*, 1989). Brevemente, al final del periodo de incubación de las células (1x10⁷ células) se lavaron 2x en PBS sin Ca²⁺ y Mg²⁺. Los sedimentos celulares resultantes se resuspendieron en 20 μ l de Tampón A (Hepes 10 mM (pH 7,9), KCl 10 mM, MgCl₂ 1,5 mM, 0,5 mM.

El efecto de la inhibición de IKK- β sobre la producción de eicosanoide y citocina estimulada por monocito humano se evaluó de la siguiente manera: se aislaron monocitos a partir de sangre entera heparinizada mediante centrifugación de doble gradiente como se ha descrito anteriormente. Los PBMC enriquecidos con monocito aislados se adherieron a placas de cultivo de 24 pocillos a 2 x 10⁶ células/ml en RPMI 1640 FBS al 10% (Hyclone, Logan, Utah) durante 2 h. para enriquecer adicionalmente la población de monocito. Después se retiraron los medios, las células se lavaron una vez con RPMI 1640, y se añadió 1 ml de RPMI 1640 FBS al 10% a los pocillos. Los compuestos de ensayo se añaden a los pocillos con una concentración final de vehículo de DMSO al 0,05%. Los monocitos se activaron mediante la adición de 200 ng/ml de endotoxina (LPS; serotipo de *E. coli* 026:B6) (Sigma, St. Louis, MO.) y se incubaron durante 24 h. Los sobrenadantes sin células se analizaron por ELISA para TNF- α (EIA desarrollado a SB), PGE₂ (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI), e IL-8 e IL-6 Biofuente International, Camarillo, CA). La viabilidad de las células se terminó mediante exclusión con azul de triptano.

El efecto de los inhibidores de IKK- β sobre la inflamación inducida por éster de forbol se evaluó de la siguiente manera: la respuesta inflamatoria inducida por la aplicación cutánea de éster de forbol (PMA) al pabellón auricular externo de ratones Balb/c ha resultado ser un modelo útil para examinar la infiltración celular inflamatoria multifactorial y la alteración inflamatoria de la epidermis. La lesión inflamatoria intensa está dominada por la infiltración de neutrófilos, que puede cuantificarse fácilmente midiendo la concentración en tejido de mieloperoxidasa, una enzima granular azurifílica presente en neutrófilos. Además, la intensidad global de la respuesta inflamatoria puede medirse determinando el espesor de la oreja. A ratones Balb/c (n = 6/grupo) se les administró tratamiento con fármaco o vehículo seguido de PMA (4 μ g/oreja). Los ratones se sacrificaron 4 h. después, se determinó el espesor de la oreja y la activación de NF- κ B se controló por transferencia de western de I κ Ba o análisis EMSA.

El efecto de los inhibidores de IKK- β sobre el edema de pata inducido por carragenano en rata se evaluó de la siguiente manera: ratas Lewis macho (Charles River-Raleigh, NC) se alojaron y se les permitió acceso libre a alimento y agua, y que pesaban entre 200-275 g para cada experimento. El compuesto o vehículo (tragacanto al 0,5% (p.o.) o DMSO al 10%, DMA al 5%, Cremophor al 30% (i.p.)) se administró de 30 minutos a 1 hora antes de la inyección de carragenano. El edema se indujo por inyección de carragenano al 1% en dH₂O estéril (0,05 ml/pata) en la superficie plantar de la pata trasera derecha. El espesor de la pata se midió antes de la administración de compuesto o vehículo, y de nuevo a las 3 horas, para determinar el cambio en el volumen de la pata. Las ratas se sacrificaron por inhalación de CO₂ y se retiró el pie trasero derecho, se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C para su análisis.

Para determinar los efectos de un inhibidor de IKK-2 en el modelo de artritis inducida por colágeno en ratón (CIA), 12 ratones DBA/1 macho (20-22 gramos) por grupo de tratamiento se inmunizaron en el día 0 con un total de 100 μ l de adyuvante de Freund completo (CFA) que contenía 200 μ g de colágeno de tipo II bovino. En el día 21 los ratones se estimularon con 100 μ l de solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía 200 μ g de colágeno de tipo II bovino (los 100 μ l de colágeno/CFA o colágeno/PBS se inyectaron por vía subcutánea en la cola). El inhibidor de IKK-2 en el vehículo, o vehículo solo, se administró por vía intraperitoneal, dos veces al día, de los 1 a 40 (los síntomas de enfermedad son evidentes empezando en los días 25-28). Dos grupos de tratamiento adicionales incluían el control positivo etanercept (Enbrel) (4 mg/kg, por vía intraperitoneal, un día sí y otro no), y el vehículo etanercept (PBS). Los ratones se valoraron diariamente, en el día 50, para los síntomas clínicos (véase a continuación), y se midieron los espesores de pata. Además de los 12 ratones por grupo de tratamiento que se valoraron durante el experimento, en diversos puntos temporales durante el transcurso de la enfermedad ratones satélite (3-5 por grupo de tratamiento) tratados como se ha descrito anteriormente se utilizaron para medir los niveles de citoquina/quimioquina y los niveles de p65 en la pata, la respuesta de recuerdo de antígeno *ex vivo* drenando el nódulo linfático.

ES 2 285 125 T3

5 *Inducción de artritis AIA* se induce mediante una única inyección de 0,75 mg de *Mycobacterium butiricum* (Difco, Detroit, MI) suspendida en aceite de parafina en la base de la cola de ratas Lewis macho de 6-8 semanas de edad (160-180 g). Los volúmenes de pata trasera se miden mediante un procedimiento de desplazamiento de agua en el día 16 y/o el día 20. Los compuestos de ensayo se homogeneizaron en un vehículo adecuado y se administraron mediante una vía adecuada. A los animales de control se les administró vehículo solo. En general se usan dos protocolos de dosificación: dosificación profiláctica, que se inicia en el día de la inyección de adyuvante y administración terapéutica, que se inicia en el día 10 una vez establecida la inflamación.

10 *Valoración clínica*

A cada pata se le asignó una valoración que variaba de 0-4, basándose en los siguientes criterios:

0 = no hay inflamación

15 1 = un único dedo hinchado

2 = varios dedos hinchados, ligera hinchazón de la pata

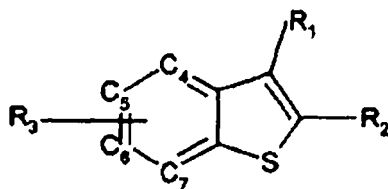
20 3 = varios dedos hinchados, moderada hinchazón de la pata

4 = todos los dedos hinchados, grave hinchazón de la pata

La descripción anterior describe completamente la invención incluyendo las realizaciones preferidas de la misma. Las modificaciones y mejoras de las realizaciones descritas específicamente en este documento están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones. Sin elaboración adicional, se cree que un especialista en el área puede, usando la descripción anterior, utilizar la presente invención en toda su extensión. Por lo tanto los Ejemplos de este documento deben entenderse como simplemente ilustrativos y no como una limitación del alcance de la presente invención de ninguna manera. Las realizaciones de la invención en las que se reivindica una propiedad o privilegio exclusivo se definen de la siguiente manera.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) a continuación en este documento:



(I)

R₁ representa CONH₂;

R₂ representa NR₄R₅;

R₃ se selecciona entre el grupo constituido por H, CN, CF₃, halógeno, arilo, heteroarilo, alquilo, O-alquilo, y S-alquilo; y puede estar unido a cualquiera de C₄, C₅, C₆ o C₇;

R₄ representa H o alquilo; y

R₅ se selecciona entre el grupo constituido por H, CO-alquilo, SO₂-alquilo, CONH₂, CONH-alquilo, CONH-arilo, CONH-heteroarilo, CSNH₂, CSNH-alquilo, CSNH-arilo, CSNH-heteroarilo, SO₂NH₂, SO₂NH-alquilo, SO₂NH-arilo, y SO₂NH-heteroarilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el compuesto se selecciona entre el grupo constituido por:

amida del ácido 2-amino-6-(4-fluoro-fenil)-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico; y

amida del ácido 2-ureido-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico.

3. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en la preparación de un medicamento para usar en el tratamiento de una enfermedad **caracterizada** por la activación patológica de NF-κB.

4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3 en el que la enfermedad es un trastorno inflamatorio o de reparación de tejido.

5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4 en el que la enfermedad se selecciona entre el grupo constituido por trastornos inflamatorios y de reparación de tejido, particularmente artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, asma y COPD (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) osteoartritis, osteoporosis y enfermedades fibróticas, dermatosis, incluyendo psoriasis, dermatitis atópica y lesión cutánea inducida por radiación ultravioleta (UV), enfermedades autoinmunes incluyendo lupus sistémico eritematoso, esclerosis múltiple, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, rechazo de órganos y tejidos, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, aterosclerosis, reestenosis, diabetes, glomerulonefritis, cáncer, incluyendo enfermedad de Hodgkins, caquexia, inflamación asociada con infección y ciertas infecciones virales, incluyendo síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), síndrome disneico agudo en adultos, y ataxia telangiectasia.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para usar en terapia.

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.