

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 826 825**

51 Int. Cl.:

A61K 31/045 (2006.01)

A61K 31/33 (2006.01)

A61K 31/34 (2006.01)

A61K 31/335 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.03.2016** **PCT/US2016/024392**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.10.2016** **WO16160635**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2016** **E 16773885 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2020** **EP 3273951**

54 Título: **Composiciones y métodos para el tratamiento de la psoriasis**

30 Prioridad:

27.03.2015 US 201562139619 P

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

19.05.2021

73 Titular/es:

SYMBIONYX PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)
315 Wootton Street
Boonton, NJ 07005, US

72 Inventor/es:

CHAUDHURI, RATAN K. y
BOJANOWSKI, KRYS

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 826 825 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

Composiciones y métodos para el tratamiento de la psoriasis

Campo técnico

La presente enseñanza está dirigida a nuevos compuestos de isosorbida y a composiciones y métodos para usar los mismos en el tratamiento de la psoriasis y otras enfermedades que tienen expresiones génicas específicas de enfermedades similares y/o comunes.

Antecedentes

La psoriasis es una enfermedad crónica compleja, caracterizada por hiperproliferación de queratinocitos y aumento de la infiltración dérmica por células inmunes, en particular neutrófilos y células Th1/Th17 (*R Heidenrich et al., Angiogenesis drives psoriasis pathogenesis, Int J Exp Pathol, 90(3):232-248, 2009*) que afecta aproximadamente al 2-4% de la población caucásica (*MP Schon et al., Psoriasis, New Engl J Med, 352:1899-1912, 2005*). Desentrañar la patogenia de la psoriasis muestra que varios mediadores proangiogénicos se activan y se expresan altamente durante la psoriasis (*R Heidenrich et al., Angiogenesis: the new potential target for the therapy of psoriasis? Drug News Perspect, 21(2):97-105, 2008*). El factor de crecimiento endotelial vascular, el factor inducible por hipoxia, el factor de necrosis tumoral, la interleucina-8 y las angiopoyetinas se consideran los principales agentes responsables de la formación de vasos fuertes en la psoriasis. El medio proangiogénico de la piel parece ser el resultado de una respuesta inmunitaria proinflamatoria iniciada por las células T colaboradoras. La psoriasis se caracteriza por la formación de placas eritematosas nítidamente delimitadas con gran descamación. La formación de placa ocurre principalmente en sitios de fuerte estrés mecánico, tales como los sitios de piel estirada. Los codos, las rodillas y el cuero cabelludo están afectados en la mayoría de los pacientes. La mayoría de los pacientes con psoriasis de moderada a grave requieren un tratamiento sistémico a largo plazo para controlar su psoriasis.

Además de los marcadores de activación inmunitaria, los marcadores de estrés oxidativo se elevan constantemente en los pacientes con psoriasis y se combinan con la disfunción antioxidante. Estos pacientes tienen una carbonilación incrementada (marcador de estrés oxidativo) de macromoléculas en biopsias de piel y fibroblastos cultivados, malondialdehído plasmático incrementado (producto de peroxidación de lípidos), 8-hidroxidesoxiguanosina incrementada en orina (un marcador de oxidación del ADN) y nitrato (un producto del óxido nítrico), hidroperóxidos lipídicos incrementados y antioxidantes séricos inferiores (*AJ Gill y DL Kolson, Dimethyl fumarate modulation of immune and antioxidant responses: application to HIV therapy, Crit Rev Immunol, 33(4):307-59, 2013; referencias citadas en el mismo*).

La psoriasis también se caracteriza por una barrera cutánea deteriorada (*U Huffmeier, H Traupe, V Oji et al., Loss-of-function variants of the flaggrin gene are not major susceptibility factors for psoriasis vulgaris or psoriatic arthritis in German patients, J Invest Dermatol, 127:1367-1370, 2006*). Se ha informado que < 5% de los pacientes con psoriasis tienen mutaciones de filagrina (FLG) y el 80% de los pacientes con psoriasis tienen deficiencia de FLG en su piel (*U Huffmeier et al, J Invest Dermatol, 127:1367-370, 2006*). Kim et al han demostrado que la deficiencia de FLG y Loricrina (LOR) en la mayoría de los pacientes con psoriasis se debe a la activación del TNF- α (*BE Kim, MD Howell, E Guttman et al, TNF- α down regulates filaggrin and loricrin through c-Jun N-terminal kinase: Role for TNF- α antagonists to improve skin barrier, J Invest Dermatol, 13:1272-1279, 2011*).

En resumen, la psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel que involucra numerosos ejes inmunes, en particular varios brazos del eje de los linfocitos T; estrés oxidativo elevado; respuestas antioxidantes deterioradas y disfunción de la barrera.

El ácido fumárico se produce de forma natural y es un compuesto importante bioquímicamente, ya que penetra en el ciclo del ácido cítrico. El fumarato es un subproducto en ciertas etapas del ciclo arginina-urea y en la biosíntesis de purinas. Dado que el ciclo del ácido cítrico es el centro de producción de energía, el ácido fumárico debe estar presente en todas las células del cuerpo, ya que es un subproducto del ciclo. El ácido fumárico es metabólicamente muy activo. En individuos sanos, el ácido fumárico se forma en la piel cuando se expone a la luz solar. Al parecer, los pacientes que padecen psoriasis tienen un defecto bioquímico en el que no pueden producir suficiente ácido fumárico y necesitan una exposición prolongada al sol para producirlo. Esta es la razón por la que los pacientes notan con frecuencia una mejora del estado de su piel en los meses de verano y también explica, en parte, la eficacia del tratamiento PUVA.

Los ésteres de ácido fumárico (FAE) se han utilizado durante más de 25 años en el tratamiento de la psoriasis en Europa con el nombre comercial de Fumaderm (formulación de dimetilfumarato y etilhidrógeno-fumarato) (*U Mrowietz y K Asadullah, Dimethylfumarate for psoriasis: more than a dietary curiosity, Trends Mol Med, 11:43-48, 2005*). 50 a aproximadamente 70% de los pacientes con psoriasis muestran una mejoría clínica de al menos 75% después de aproximadamente cuatro meses de tratamiento (*D Pathirana et al., Directrices europeas S3 sobre el tratamiento sistémico de la psoriasis vulgar, J Eur Acad Dermatol Venereol, 23 supl 2:1-70, 2009*). Esta respuesta al tratamiento es equiparable a la eficacia de los agentes biológicos anti-TNF- α de primera generación, pero a un costo mucho menor. El tratamiento a largo plazo con FAE muestra un perfil de seguridad favorable (*JJ Hoefnagel et al., Long-term safety aspects of systemic therapy with fumaric acid esters in severe psoriasis Brit J Dermatol, 149: 363-*

369, 2003; K Reich et al., *Efficacy and safety of fumaric acid esters in the long-term treatment of psoriasis - a retrospective study (Future)*, *J Ditch Dermatol Ges*, 7: 603-611, 2009).

Se ha demostrado que el dimetilfumarato (DMF) y su principal metabolito monometilfumarato (MMF) aumentan la expresión de citocinas antiinflamatorias interleucina IL-10, IL-4 e IL-6, al tiempo que inhiben la expresión de citocinas proinflamatorias IL-6, IL-1 beta y factor de necrosis tumoral alfa (K Asadullah et al. *Influence of monomethylfumarate on monocyclic cytokine formation – Explanation for adverse and therapeutic effect in psoriasis?* *Arch Dermatol Res*, 289:623-630, 1997; R de Jong et al., et al. *Selective stimulation of T helper 2 cytokine response by the anti-psoriasis agent monomethylfumarate*, *Eur J Immunol*, 26:2067-2074, 1996; S Schilling et al., *Fumaric acid esters are effective in Chronic experimental autoimmune encephalomyelitis and suppress macrophage infiltration*, *Clin Exp Immunol*, 145:101-107, 2006). También se ha demostrado que el MMF aumenta, en función de la dosis, la actividad de la transglutaminasa (TGasa), un marcador de la diferenciación tardía de los queratinocitos, así como la queratina 10 (K10), un marcador de la diferenciación temprana de los queratinocitos (IA Helwa et al., *The mechanism of monomethyl fumarate (MMF) as an anti-psoriatic agent*, *J Invest Dermatol*, 132: S51-S64, 2012).

Recientemente se publicó un estudio sobre el perfil de expresión génica en ARN derivado de biopsias de placa psoriásica tomadas antes y después de 12 semanas de tratamiento con FAE (AJ Onderdijk et al., *Regulated genes in psoriasis skin during treatment with fumaric acid esters*, *Brit J Dermatol*, 2014). Este estudio demuestra que las moléculas específicas para FAE relacionadas con la respuesta al tratamiento son los factores de transcripción PTTG1, NR3C1, GATA3 y NG-kappaBIZ, que son importantes en el desarrollo cutáneo normal y en las vías Th2 y Th17 que inducen enfermedades.

Se informa que después de la administración oral, el dimetilfumarato se escinde rápidamente en monometilfumarato a través de las esterasas en el intestino delgado (D Werdenberg et al., *Presystemic metabolism and intestinal absorption of antipsoriatic fumaric acid esters*, *Biopharm Drug Dispos*, 24:259-273, 2003). El dimetilfumarato y el metabolito principal monometilfumarato tienen semividas de 12 minutos y 36 horas, respectivamente. Las concentraciones máximas de monometilfumarato se alcanzan en el espacio de 5 a 6 horas. Aunque el compuesto original, dimetilfumarato, no muestra unión a proteínas, se encuentra que el monometilfumarato se une aproximadamente al 50% (U Mrowietz et al., *Treatment of severe psoriasis with fumaric acid esters: Scientific background and guidelines for therapeutic use. The German Fumaric Acid Ester Consensus Conference*, *Br J Dermatol*, 141: 424-429, 1999).

El metabolismo del monometilfumarato se produce a través del ciclo del ácido cítrico que conduce a la excreción a través de la respiración sin metabolismo conocido por el sistema del citocromo P450 (D Werdenberg et al., *Presystemic metabolism and intestinal absorption of antipsoriatic fumaric acid esters*, *Biopharm Drug Dispos*, 24: 259-273, 2003; NH Litjens et al., *Pharmacokinetics of oral fumarates in healthy subjects*, *Br J Clin Pharmacol*, 58: 429-432, 2004). La administración de un solo comprimido de fumarato (que contiene dimetilfumarato y monoetilfumarato de calcio) con alimentos condujo a una variabilidad en las concentraciones séricas de monometilfumarato, lo que sugiere que el dimetilfumarato debe tomarse antes de las comidas. (NH Litjens et al., *Pharmacokinetics of oral fumarates in healthy subjects*, *Br J Clin Pharmacol*, 2004;58: 429-432). Un estudio más reciente que se centró en los metabolitos de FAE en la orina humana reveló lo que se cree que es el verdadero modo de acción de FAE y explicó la discrepancia entre el hecho de que el DMF es activo in-vitro y, sin embargo, carece o tiene un nivel plasmático bajo in-vivo. (M Rostami-Yazdi et al., *Detection of metabolites of fumaric acid esters in human urine: Implications for their mode of action*, *J Invest Dermatol*, 129:231-24, 2009 y referencias citadas en el mismo). A este respecto, se sabe que las células T fomentan eventos inflamatorios en la piel psoriásica, y el tratamiento con FAE conduce a una reducción de las células T in-vivo, que se debe en parte a la apoptosis antes de que el efecto clínico se haga evidente. Este efecto puede explicarse por la capacidad del DMF de agotar fuertemente el glutatión intracelular, lo que se correlaciona bien con la inducción de apoptosis. Otro efecto de la terapia con FAE es que las células mononucleares de la sangre periférica de los pacientes con psoriasis producen niveles más bajos de citocinas proinflamatorias Th-1. Este estudio revela que una parte considerable de DMF no se hidroliza después de la ingesta oral, sino que penetra en la circulación y reacciona con el glutatión in-vivo. En resumen, el modo de acción postulado de FAE se basa en la capacidad de DMF de agotar el glutatión intracelular en las células inmunes, seguido de la generación de citocinas antiinflamatorias y/o la inducción de apoptosis.

Estudios in vitro han demostrado que el DMF y su metabolito primario MMF inducen la expresión de la vía NrF2/NQO1 en células endoteliales (K Benardais, R Pul, V Singh et al., *Effects of fumaric acid esters on blood-brain barrier tight junction proteins*, *Neurosci Lett*, 555:165-170, 2013). Se ha encontrado que la vía NrF2 puede ser regulada por FAE en neuronas y que los efectos neuroprotectores de fumaratos dependen de vías antioxidantes mediadas por NrF2 (RA Linker, DH Lee, S Ryan et al., *Fumaric acid ester exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the NrF2 antioxidant pathway*, *Brain*, 134:678-692, 2011). Estudios recientes de Onderdijk et al. en seres humanos demuestran de manera convincente que la vía de NrF2 se expresó de manera diferencial en los respondedores, así como en los no respondedores de FAE, pero no en los pacientes tratados con etanercept, lo que sugiere un efecto específico para FAE (AJ Onderdijk, DMW Balak, EM Baerveldt et al., *Regulated genes in psoriasis in skin during treatment with fumaric acid esters*, *Brit J Dermatol*, 171 (4):732-741, 2014).

Además, las vías inducidas específicas para FAE en la piel incluyen la activación de las vías de NrF2 y glutatión (AJ Onderdijk, DMW Balak, EM Baerveldt et al., *Regulated genes in psoriasis in skin during treatment with fumaric acid*

esters, Brit J Dermatol, 171 (4):732-741, 2014).

Siguiendo y además de las enseñanzas anteriores, se han propuesto FAEs y otros derivados del ácido fumárico en la bibliografía de patentes para su uso en el tratamiento de una amplia gama de enfermedades y afecciones. A continuación, se ofrecen unos pocos ejemplos:

- 5 Procesos inmunológicos, autoinmunitarios y/o inflamatorios, incluida la psoriasis
Documento US 6.277.882: Joshi et. al. - Utilización de hidrógeno-fumaratos de alquilo para el tratamiento de psoriasis, artritis psoriásica, neurodermatitis y enteritis regional
Documento US2010144651: Nilsson et. al. - Nuevos ésteres de glucopiranos y ésteres de glucofuranosa de alquil-fumaratos y su uso farmacéutico
- 10 Asma y enfermedades pulmonares obstructivas crónicas
Documento US 2007/0027076: Joshi et. al. - Uso de derivados del ácido fumárico para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca y el asma.
Insuficiencia cardíaca que incluye insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio y angina de pecho
- 15 Documento US 2007/0027076: Joshi et. al. - Uso de derivados del ácido fumárico para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca y el asma
Enfermedades mitocondriales y neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la retinopatía pigmentaria y la encefalomiopatía mitocondrial.
Documento US 2006/0205659: Joshi et. al. - Amidas de ácido fumárico
Documento US 6.509.376: Joshi et. al. - Utilización de dialquilmumaratos
- 20 Documento US 6.858.750: Joshi et. al. - Uso de derivados del ácido fumárico para el tratamiento de enfermedades mitocondriales
Documento US 7.157.423: Joshi et. al. - Amidas de ácido fumárico
Trasplante
Documento US 2006/0205659: Joshi et. al. - Amidas de ácido fumárico
- 25 Documento US 6.359.003: Joshi et. al. - Uso de derivados del ácido fumárico en medicina de trasplantes
Documento US 6.509.376: Joshi et. al. - Utilización de dialquilmumaratos
Documento US 7.157.423: Joshi et. al. - Amidas de ácido fumárico
Documento US 2014/066505: Joshi et. al. - Utilización de dialquilmumaratos
Enfermedades autoinmunes, incluida la esclerosis múltiple (EM)
- 30 Documento US 6.509.376: Joshi et. al. - Utilización de dialquilmumaratos
Documento US 7.157.423: Joshi et. al. - Strebel, amidas de ácido fumárico
Documento US 2006/0205659: Joshi et. al. - Strebel, amidas de ácido fumárico
Documentos US 6.436.992 y US 7.320.999: Joshi et. al. - Uso de derivados del ácido fumárico
Documento US 2008/0089896: Wang et al. - Miméticos SMAC bivalentes y usos de los mismos
- 35 Documento US 8.399.514: Lukashev et. al. - Tratamiento de la esclerosis múltiple
Documento US 8.669.281 B1: Zeidan et. al. - Profármacos de fumaratos y su uso en el tratamiento de diversas enfermedades.
Documentos US 8.759.393, US 8.524.773, US 7.915.310, US 7.803.840, US 7.619.001 y US 7.612.110: Joshi et al. - Utilización de dialquilmumaratos
- 40 Lesión por isquemia y reperfusión
Documento US 2007/0027076: Joshi et. al. - Uso de derivados del ácido fumárico para el tratamiento de la

insuficiencia cardíaca y el asma.

A pesar de sus atributos, como se señaló anteriormente, los fumaratos están asociados con muchos inconvenientes. Por ejemplo, la terapia con productos fumaratos tal como Fumaderm da lugar frecuentemente a sofocos y/o efectos secundarios gastrointestinales, tales como hinchazón, llenura, diarrea, calambres abdominales superiores, flatulencia y náuseas (Gold et al., *New. Ing. J. Med.*, 367(12):1098-1107, 2012). Adicionalmente, DMF y MMF son sensibilizadores cutáneos conocidos (Lammintausta et al., *Contact Dermatitis*, 62(2):88-96, 2010) y, por lo tanto, presentan serios problemas en términos de manipulación del producto. Además, la aplicación tópica está completamente excluida y, en cualquier caso, el DMF es ineficaz cuando se administra tópicamente.

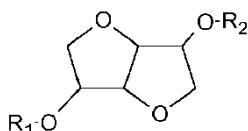
Los problemas se ven agravados por el hecho de que los productos actualmente disponibles comercialmente contienen generalmente una combinación de al menos dos ésteres de fumarato diferentes, uno de los cuales (el éster monometílico) está presente en tres formas diferentes: la sal de calcio, la sal de magnesio y la sal de zinc). Aunque cada una de las formas individuales puede tener su propio perfil terapéutico, sería ventajoso disponer de un producto mucho más sencillo y bien definido, si es posible, con el fin de obtener un efecto terapéutico adecuado.

Un enfoque alternativo y la principal tendencia actual de la investigación de los fármacos contra la psoriasis son los productos biológicos - un tipo de terapia novedosa pero costosa que tiene muchos efectos secundarios graves. Por ejemplo, estos medicamentos pueden predisponer a los pacientes a infecciones y aumentar su riesgo de desarrollar diversas neoplasias malignas. Desde el punto de vista de la salud pública, el desarrollo de tuberculosis activa en algunos pacientes con estos productos biológicos es motivo de una seria preocupación. De manera similar, se ha encontrado un riesgo incrementado de padecer una variedad de afecciones malignas, tales como linfoma, leucemia y melanomas. (Revisión: *RK Sivamani, G Correa, Y Ono, MP Bowen, SP Raychaudhuri, E Maverakis, Biological Therapy of psoriasis, Indian J Dermatol*, 55(2):161-170, 2010).

Por consiguiente, existe la necesidad de desarrollar nuevos compuestos terapéutica y/o profilácticamente activos que proporcionen una alternativa a los medicamentos existentes, especialmente los ésteres de ácido fumárico comerciales actuales y productos biológicos para la psoriasis y otras enfermedades. En particular, existe la necesidad de tratamientos orales y/o tópicos nuevos y/o mejorados, especialmente aquellos que manifiestan una reducción en el rubor y/o efectos secundarios relacionados con el gastro-intestinal junto con, muy especialmente, en particular con respecto a estos últimos, una biodisponibilidad incrementada, así como tratamientos que carecen de sensibilización cutánea cuando se aplican tópicamente.

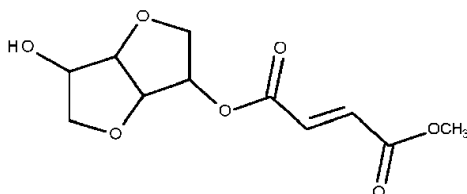
Sumario de la invención

De acuerdo con la presente divulgación, se proporcionan nuevos productos que mejoran, reducen y/o revierten los efectos y/o la manifestación de la psoriasis, así como otras enfermedades que comparten perfiles comunes de expresión génica. Específicamente, ahora se ha encontrado que compuestos de acuerdo con la fórmula general (I):

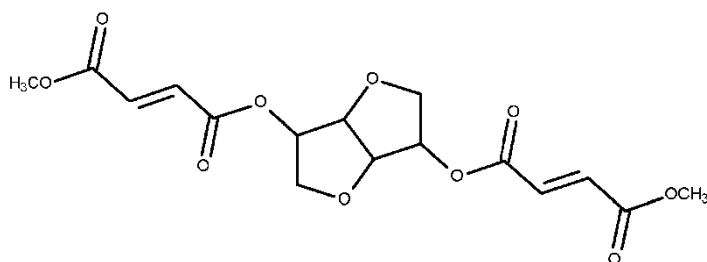


(I)

en la que R₁ y R₂ son ambos -C(O)CH=CH-C(O)OMe, o uno de R₁ y R₂ son H y el otro es -C(O)CH=CH-C(O)OMe, en donde Me es metilo: especialmente los ésteres de mono- y di-fumarato, fórmulas (I)(a) y (I)(b), respectivamente, cuya estructura es la siguiente:



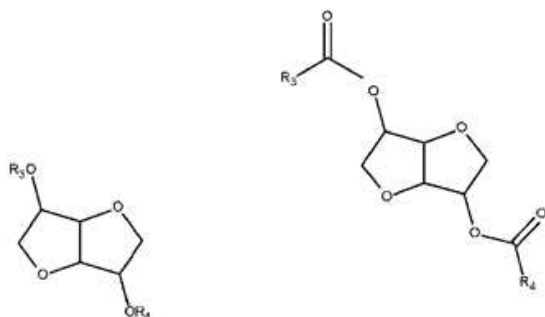
(I)(a)



(I)(b),

son muy eficaces en el tratamiento de la psoriasis y otras enfermedades que comparten expresiones genéticas comunes. Son especialmente preferidos di-(metilfumarato) de isosorbida (IDMF) y mono-(metilfumarato) de isosorbida (IMMF). Se ha descubierto que estos compuestos, especialmente IDMF e IMMF, son compuestos fijados como objetivo/que fijan como objetivo múltiple que afectan simultáneamente a diversos factores/condiciones de la enfermedad para la que se administran. Aunque no se pretende ceñirse a la teoría, se cree que estos compuestos actúan a través de diversas vías antiinflamatorias y antioxidantes potentes. Además, los di-(metilfumaratos), especialmente IDMF, carece de sensibilización cutánea y enrojecimiento. Además, estos compuestos se pueden formular con o en diversos soportes y/o composiciones de tratamiento conocidos y se pueden administrar mediante cualquiera de los métodos de aplicación farmacéuticos conocidos o aún por descubrir, p. ej., oral, tópico, intramuscular, intravenoso, transdérmico, así como dosificación de liberación sostenida/programada.

Si bien estos compuestos son efectivos individualmente, pueden usarse en combinación entre sí, p. ej., combinaciones de dos o más compuestos que cumplen la Fórmula I anterior, o en combinación con otros compuestos farmacológicamente activos, particularmente compuestos que de manera similar reducen, mejoran, inhiben o de otra manera, abordan o tratan síntomas y/o afecciones asociadas con las enfermedades que deben ser abordadas por los compuestos de la presente enseñanza. Más especialmente, la presente enseñanza está dirigida a combinaciones de uno o más de los compuestos de Fórmula I con uno o más compuestos de Fórmula II y/o Fórmula III:



(II)

y

(III)

en donde R_3 y R_4 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan independientemente de grupos alquilo de cadena lineal o ramificada; saturados o insaturados que tienen de 4 a 30 átomos de carbono, preferiblemente de 6 a 22 átomos de carbono, lo más preferiblemente de 8 a 18 carbonos, incluyendo dicho número de carbonos el átomo de carbono del carbonilo en el caso de la estructura (II), siempre que cuando R_3 y R_4 sean diferentes, uno de R_3 o R_4 también puede ser hidrógeno o una cadena lineal o ramificada; grupo alquilo saturado o insaturado de 1 a 4, preferiblemente 1 a 3 átomos de carbono. Compuestos especialmente preferidos de Fórmula III incluyen aquellos en los que R_3 y R_4 son ambos especies de C17, a saber, los ésteres de di-linoleato (dos insaturaciones), los ésteres de di-oleato (una insaturación) y/o los ésteres de di-estearato (sin insaturación); ambas especies C15, a saber, los ésteres de di-palmitato (sin insaturación); o la especie de C8, a saber, los ésteres de di-caprilato, o combinaciones de dos o más de los anteriores. Entre otros beneficios, estos ésteres de isosorbida se seleccionan para ser incluidos en formulaciones tópicos para aliviar la piel seca, un problema común de los pacientes psoriásicos.

Breve descripción de las figuras

Las FIGS. 1A y 1B son fotomicrografías que muestran la morfología de los progenitores de queratinocitos epidérmicos humanos no tratados (FIG. 1A) y tratados con IL-17A/IL-22/TN- α durante 48 horas (FIG. 1B).

Las FIGS. 2A, 2B y 2C son fotomicrografías de secciones histológicas de piel de cola de ratón que ha sido tratada con 2% de IDMF (FIG. 2B) y Tazorac (1%) (FIG. 2C) y de un control (FIG. 2A).

Descripción detallada de la invención

Tal como se utiliza en la presente memoria descriptiva, los siguientes términos y expresiones tendrán los significados tal como se presentan:

"Paciente" se refiere a un mamífero, por ejemplo, un ser humano.

"Farmacéuticamente aceptable" significa que el objeto de este descriptor ha sido aprobado o de otra manera puede ser aprobado por una agencia reguladora de un gobierno o un gobierno o está enumerado en la Farmacopea de los Estados Unidos u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

"Vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un diluyente farmacéuticamente aceptable, un adyuvante farmacéuticamente aceptable, un excipiente farmacéuticamente aceptable, un soporte farmacéuticamente aceptable o una combinación de cualquiera de los anteriores con los que un compuesto proporcionado por la presente divulgación se puede administrar a un paciente, que no destruye ni tiene un efecto adverso marcado sobre la actividad farmacológica del agente activo farmacológico o metabolito del mismo contenido y que no es tóxico cuando se administra en dosis suficientes para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz del agente activo farmacológico o metabolito del mismo.

"Composición farmacéutica" se refiere a una composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un agente o metabolito farmacológico activo, especialmente en el caso de las composiciones farmacéuticas reivindicadas por la presente solicitud, principios activos farmacológicos de Fórmula (I).

"Tratar" o "tratamiento" de cualquier enfermedad se refiere a revertir, aliviar, detener o mejorar una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, reducir el riesgo de adquirir una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, inhibiendo el progreso de una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad o reduciendo el riesgo de desarrollar una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad. "Tratar" o "tratamiento" también se refiere a inhibir una enfermedad, ya sea físicamente (p. ej., estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (p. ej., estabilización de un parámetro físico), o ambos, y a inhibir al menos un parámetro físico, que puede o no ser discernible para el paciente. En determinadas realizaciones, "tratar" o "tratamiento" se refiere a retrasar la aparición de una enfermedad o al menos uno o más síntomas de la misma en un paciente que puede estar expuesto o predispuesto a una enfermedad, aunque ese paciente todavía no la haya experimentado o presente síntomas de la enfermedad.

"Mejora" se usa para transmitir que la presente invención cambia las características y/o los atributos físicos del tejido al que se le proporciona, aplica o administra. El término "mejora" también se puede usar junto con un estado de enfermedad, de modo que cuando un estado de enfermedad "mejora" los síntomas o características físicas asociadas con el estado de enfermedad disminuyen, reducen o eliminan.

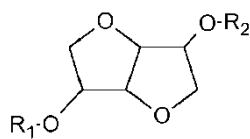
"Inhibir" se refiere generalmente a la prevención de la aparición de los síntomas, el alivio de los síntomas o la eliminación de la enfermedad, afección o trastorno.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que el sujeto, evento o circunstancia descrito posteriormente puede ocurrir o no, y que la descripción incluye casos en los que ocurre el evento y casos en los que no ocurre y/o cuando el sujeto está presente y cuándo no está presente.

"Cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un paciente para tratar una enfermedad, o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, es suficiente para efectuar dicho tratamiento de la enfermedad o síntoma de la misma. La "cantidad terapéuticamente eficaz" puede variar dependiendo, por ejemplo, del compuesto, la enfermedad y/o los síntomas de la enfermedad, la gravedad de la enfermedad y/o los síntomas de la enfermedad, la edad, el peso y/o la salud del paciente a ser tratado, y el juicio del médico que prescribe. Los expertos en la técnica pueden determinar una cantidad apropiada en cualquier compuesto dado y/o puede determinarse mediante experimentación rutinaria.

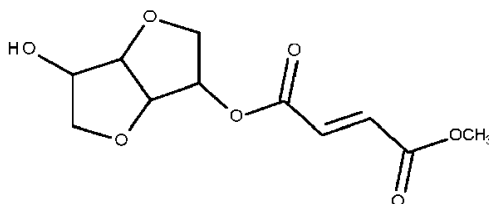
"Dosis terapéuticamente eficaz" se refiere a una dosis que proporciona un tratamiento eficaz de una enfermedad en un paciente. Una dosis terapéuticamente eficaz puede variar de un compuesto a otro y/o de un paciente a otro, y puede depender de factores tales como el estado del paciente y la vía de administración, así como los descritos en la definición anterior de cantidad terapéuticamente eficaz. Se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz de acuerdo con procedimientos farmacológicos rutinarios conocidos por los expertos en la técnica.

De acuerdo con un primer aspecto de la presente divulgación, se proporcionan nuevos compuestos de acuerdo con la fórmula general (I):

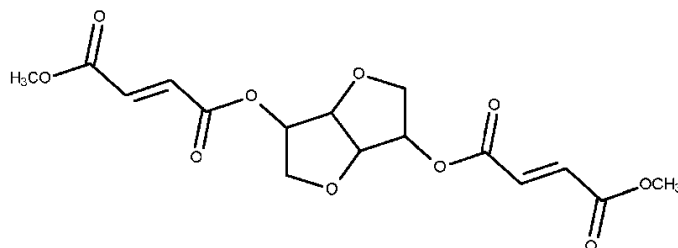


(I)

en la que R_1 y R_2 son ambos $-C(O)CH=CH-C(O)OMe$ o uno de R_1 y R_2 son H y el otro es $-C(O)CH=CH-C(O)OMe$, en donde Me es metilo: especialmente los ésteres de mono- y di-fumarato, fórmulas (I)(a) y (I)(b), respectivamente, cuya estructura es la siguiente:



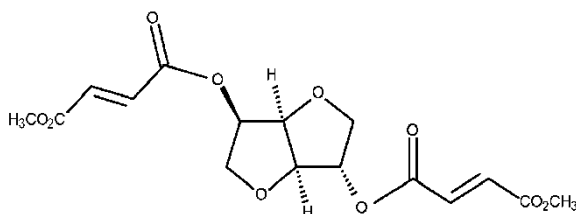
(I)(a)



(I)(b).

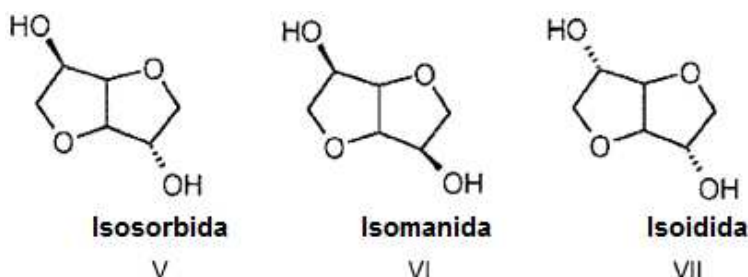
Debe apreciarse que en la fórmula (I) anterior, la orientación estructural de los grupos $-OR^1$ y OR^2 puede estar en una orientación endo (una isomanida), una orientación exo (una isoidida) o uno puede ser endo y el otro exo (una isosorbida). Debido a su estructura, los compuestos de isomanida e isoidida son moléculas simétricas; mientras que, debido a que la isosorbida tiene un grupo endo y un grupo exo, la mono-acilación da lugar a dos productos éster no equivalentes diferentes, a saber, un 2-éster o un 5-éster. En términos generales, estos compuestos tienen las características de alcoholes bis secundarios unidos a dos anillos de tetrahydrofurano condensados en cis y, como tales, poseen las propiedades tanto de dioles como de éteres.

El compuesto preferido de fórmula (I) es el di-(metilfumarato) de isosorbida (IDMF), cuya estructura (IV) se da a continuación:



(IV)

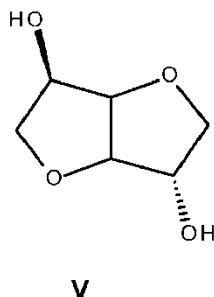
Los compuestos de fórmula (I) anterior se derivan de dianhidrohexitoles que son subproductos bien documentados de la industria del almidón obtenidos por deshidratación de D-hexitoles, que se obtienen mediante una simple reducción de azúcares hexosa. Aproximadamente 650.000 toneladas de dianhidrohexitoles se producen anualmente en todo el mundo. Estos productos quirales derivados de la biomasa existen como tres isómeros principales (isosorbida (V), isomanida (VI) e isoidida (VII)), dependiendo de la configuración de las dos funciones hidroxilo (derivadas de D-glucosa, D-manosa y L-fructosa, respectivamente). La isosorbida, que se produce a partir de la glucosa a través del sorbitol, es el dianhidrohexitol más ampliamente disponible.



Estos compuestos, así como los mono- y di-alquil (C_1 - C_4) éteres inferiores de los mismos, y los mono- y di-nitratos de los mismos, son bien conocidos y ya se utilizan en diversas aplicaciones médicas, farmacéuticas y de salud y belleza. Las isohexidas no sustituidas y sustituidas con alquilo inferior son muy solubles en agua y biológicamente inocuas. Los éteres de alquilo inferior y los compuestos no sustituidos se han utilizado como soportes en un cierto número de productos para el cuidado de la piel para ayudar en el transporte de otros ingredientes activos a través de la membrana de la piel. Los éteres de alquilo inferior también han encontrado utilidad en dentífricos, ayudando en la eliminación de la placa debido a sus propiedades osmóticas. Se han utilizado dinitrato de isosorbida y mononitrato de isosorbida para tratar la angina de pecho. Al igual que otros donantes de óxido nítrico, estos fármacos reducen la presión portal por vasodilatación y disminución del gasto cardíaco.

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) pueden formarse mediante cualquiera de los métodos conocidos para la sustitución alcanoílo de isohexidas o mediante versiones modificadas de esos métodos, como será evidente para los expertos en la técnica que se benefician de esta divulgación. La esterificación se encuentra entre las transformaciones orgánicas más simples y realizadas con mayor frecuencia. Los procesos de esterificación más comunes implican la sustitución de acilo nucleofílico en los casos en los que el compuesto de carbonilo se usa como un electrófilo y es atacado por un alcohol nucleófilo, tal como las isohexidas en la presente divulgación. Sin embargo, son posibles otros procesos; por ejemplo, la esterificación por alquilación invierte las funciones de la química del carbonilo "clásica": se utiliza un anión carboxilato como nucleófilo que desplaza un ion haluro en una reacción SN_2 .

A continuación, de acuerdo con un segundo aspecto de la presente enseñanza, se proporciona un proceso para producir los compuestos de fórmula (I). Esto implica esterificar isosorbida (V)



- a) con aproximadamente 2 a 3 moles de metilfumarato para formar el diéster o
- b) con aproximadamente 2 a 3 moles de metilfumarato para formar el diéster y luego hidrolizado de manera controlada para formar el monoéster, o
- c) con 1 mol de metilfumarato para formar el monoéster, o
- d) con 2 a 3 moles de ácido fumárico para formar el diéster, o
- e) con 2 a 3 moles de ácido fumárico para formar el diéster y luego hidrolizado de manera controlada para formar el monoéster, o
- f) con 1 mol de ácido fumárico para formar el monoéster.

Después de la producción del mono- o di-éster final, el producto de reacción se purifica entonces preferiblemente para eliminar, si están presentes, los reaccionantes en exceso, contaminantes, subproductos y otros materiales indeseables.

De acuerdo con un tercer aspecto de las presentes enseñanzas, se ha encontrado, sorprendentemente, que los compuestos de Fórmula 1, especialmente los compuestos de fórmulas (I)(a) y (I)(b), más especialmente IDMF e IMMF, son muy eficaces en el tratamiento de la psoriasis y otras enfermedades que comparten expresiones genéticas comunes. A este respecto, se ha encontrado que IDMF e IMMF son compuestos fijados como objetivo/que fijan como objetivo múltiple, que afectan simultáneamente a diversos factores/condiciones de la enfermedad para la

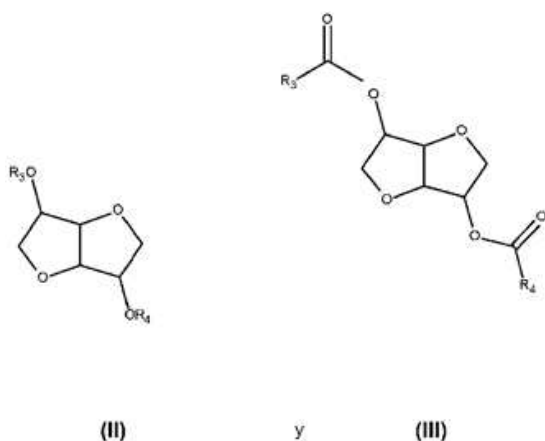
que se administran. Aunque no se pretende ceñirse a la teoría, se cree que estos compuestos actúan a través de diversas vías antiinflamatorias y antioxidantes potentes. Adicionalmente, IDMF carece de sensibilización cutánea y enrojecimiento. De hecho, dependiendo de la enfermedad y/o afección fijada como objetivo, los compuestos de la presente enseñanza pueden administrarse de acuerdo con diversos métodos de aplicación, p. ej., oral, tópico, intramuscular, intravenoso, transdérmico y formulación, como el único principio activo o como uno de varios principios activos, que pueden actuar de forma independiente o en conjunción entre sí, así como en formulaciones que permiten una dosificación de liberación sostenida/temporizada.

Como se señaló anteriormente, se ha encontrado, sorprendentemente, que los compuestos de fórmula (i), especialmente los di-(metilfumarato)s de dianhidrohexitol, lo más especialmente di-(metilfumarato) de isosorbida (IDMF), proporcionan un efecto marcado en mejorar, reducir y/o revertir o tratar de otro modo los efectos y/o la manifestación de la psoriasis, así como otras enfermedades que manifiestan síntomas similares y/o comparten perfiles de expresión génica comunes, al menos con respecto a aquellos genes que parecen estar relacionados con la enfermedad. Sin pretender estar ligado a teorías o mecanismos, se cree que estos compuestos, especialmente IDMF, son capaces de modular genes/proteínas clave responsables de la inflamación crónica en la psoriasis que involucra numerosos ejes inmunes, particularmente diversos brazos del eje de linfocitos T, y estrés oxidativo elevado, respuestas antioxidantes deterioradas y disfunción de la barrera.

Si bien estos compuestos son efectivos individualmente, los compuestos de la presente enseñanza pueden usarse, y se usan preferible y/o beneficiosamente, en combinación entre sí, p. ej., combinaciones de dos o más compuestos que cumplen la Fórmula (I) anterior, y/o en combinación con otros compuestos farmacológicamente activos, particularmente compuestos que de manera similar reducen, mejoran, inhiben o abordan o tratan de otro modo los síntomas y/o afecciones asociadas con las enfermedades que deben ser abordadas por los compuestos de la presente enseñanza. Tales combinaciones de compuestos y principios activos proporcionan resultados sorprendentes adicionales en términos de su actividad farmacológica, especialmente con respecto al tratamiento de la psoriasis y otras enfermedades que manifiestan y/o tienen efectos comunes sobre los perfiles de expresión génica. Estos otros principios activos farmacéuticos pueden seleccionarse para tratar la misma enfermedad o síntomas que los compuestos de fórmula (I) o una enfermedad o síntoma diferente. Fármacos alternativos útiles para tratar la psoriasis que se pueden combinar con los compuestos de fórmula (I) o en los que se pueden incorporar compuestos de Fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a, etanercept, adalimumab, triamcinolona, cortisona, infliximab, golimumab, fumaratos de di- o mono-alquilo y retinoides. Más especialmente, como se indicó anteriormente, los compuestos de fórmula (I) se usan en combinación con compuestos de Fórmulas II y III, pueden incorporarse, y preferiblemente se incorporan, en diversas composiciones farmacéuticas para su administración a un paciente. Estos principios activos adicionales se pueden combinar juntos y la combinación de principios activos se puede administrar como una composición farmacéutica única o se puede administrar de forma independiente, en composiciones farmacéuticas administradas de forma simultánea o secuencial.

Por tanto, de acuerdo con aún otro aspecto de la enseñanza de la presente divulgación, se proporcionan composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento que comprenden una combinación de dos o más compuestos de acuerdo con la fórmula (I) anterior, así como combinaciones de al menos un compuesto de fórmula (I) anterior y uno o más de otros principios activos farmacéuticos adecuados. Se encuentra que tales combinaciones de compuestos activos y su aplicación o administración tienen un rendimiento mejorado y/o sinérgico, particularmente con respecto al tratamiento de la psoriasis y enfermedades que manifiestan síntomas similares y/o perfiles comunes de expresión génica. Por ejemplo, una clase preferida de otros principios activos farmacéuticos son aquellos compuestos que son capaces de activar genes activadores de la capa granular, más específicamente, proteasas aspárticas de la piel (SASPasa) y filagrina. A este respecto, se ha informado que < 5% de los pacientes con psoriasis tienen mutaciones de filagrina (FLG) y el 80% de los pacientes con psoriasis tienen deficiencia de FLG en la piel (*U Huffmeier et al., J Invest Dermatol, 127:1367-370, 2006*). La investigación demuestra que la actividad de SASPasa es indispensable para procesar la profilagrina y mantener la textura y la hidratación del SC (*EMBO Mol Med, 3(6):320-33, 2011*). Adicionalmente, Bernard et al han identificado SASPasa en la capa granular de la epidermis humana (*J Invest Dermatol, 125:156-159m 2005*). Por tanto, la presencia de tales compuestos o principios activos en las composiciones de acuerdo con la presente enseñanza conduce a un refuerzo y/o mejora de la función de barrera cutánea y a la estimulación de la regeneración y diferenciación epidérmica.

Entre los compuestos activos preferidos que pueden usarse en combinación con los compuestos de fórmula (I) se encuentran los de Fórmula II y/o Fórmula III:



en donde R_3 y R_4 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan independientemente de grupos alquilo de cadena lineal o ramificada; saturados o insaturados que tienen de 4 a 30 átomos de carbono, preferiblemente de 6 a 22 átomos de carbono, lo más preferiblemente de 8 a 18 carbonos, incluyendo dicho número de carbonos el átomo de carbono del carbonilo en el caso de la estructura (II), siempre que cuando R_3 y R_4 sean diferentes, uno de R_3 o R_4 también puede ser hidrógeno o un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada; saturado o insaturado de 1 a 4, preferiblemente 1 a 3 átomos de carbono. Estos compuestos y su fabricación se describen, p. ej., en el documento US 8.496.917B2. Al igual que los compuestos de la presente divulgación, es decir, la fórmula (I), los compuestos de la Fórmula II y III se basan en productos de reacción de los dianhidrohexitoles V, VI y VII, lo más notablemente V, y diversos haluros y/o sulfatos y ácidos de cadena larga. y/o ésteres, respectivamente. Estos precursores de cadena larga, especialmente los ácidos, se derivan de aceites vegetales que típicamente contienen estos tipos de ácidos como triglicéridos. A menudo, los aceites vegetales contienen 60% o más de los ésteres de ácidos superiores: fuentes ilustrativas incluyen aceite de Salicornia, aceite de cártamo, aceite de onagra, aceite de semilla de amapola, aceite de semilla de uva, aceite de girasol, aceite de semilla de agracejo, aceite de cáñamo y aceite de maíz.

En aún otra realización preferida de la presente enseñanza, composiciones farmacéuticas preferidas de la presente enseñanza comprenden al menos un compuesto de fórmula (I) en combinación con uno o más compuestos de fórmula (II), en la que R_3 y R_4 tienen de 8 a 18 átomos de carbono, más preferiblemente de 16 a 18 átomos de carbono. Lo más especialmente, los compuestos de fórmula II son aquellos en los que R_3 y R_4 son ambas especies de C17, a saber, los ésteres de di-linoleato (dos insaturaciones), los ésteres de di-oleato (una insaturación) y/o los ésteres de di-estearato (sin insaturación); ambas especies de C15, especialmente, los ésteres de dipalmitato (sin insaturación); o la especie de C8, especialmente los ésteres de di-caprilato, o combinaciones de dos o más de los anteriores.

En términos generales, composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Por supuesto, estas composiciones pueden incluir otros ingredientes activos e ingredientes convencionales de composiciones farmacéuticas, todos los cuales son bien conocidos en la técnica. La selección de los vehículos farmacéuticamente aceptables, así como de otros ingredientes convencionales, depende, en gran medida, del modo de administración y de los síntomas de la enfermedad a tratar. Por ejemplo, en el caso de composiciones farmacéuticas aplicadas tópicamente, estas composiciones pueden incluir opcionalmente una cantidad eficaz de uno o más ingredientes protectores y/o de tratamiento de la piel, tales como antioxidantes, protectores solares, vitaminas, agentes antiinflamatorios, agentes autobronceadores, humectantes, emolientes, humectantes, solutos compatibles y similares, y mezclas de los mismos, en sus cantidades convencionales. Estas composiciones también pueden incluir otros ingredientes que tienen poca o ninguna relación con el uso final o aplicación previstos de la composición farmacéutica, pero ayudan en la preparación de la misma, tales como solubilizantes, tensioactivos, etc.

De manera similar, la forma final de las composiciones farmacéuticas y su método de fabricación también dependen, en parte, del modo de administración. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I) pueden fabricarse mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de manera convencional usando uno o más soportes, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables, que facilitan el procesamiento de compuestos de Fórmula (I), o formas cristalinas de los mismos y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables en formulaciones que pueden utilizarse farmacéuticamente. Composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación pueden adoptar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, gránulos, cápsulas, cápsulas que contienen líquidos, polvos, cremas, lociones, geles, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, sprays, suspensiones o cualquier otra forma adecuada para la administración a un paciente.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación se pueden formular en forma de dosificación unitaria. Una forma de dosificación unitaria se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada como

dosis unitaria para pacientes sometidos a tratamiento, conteniendo cada una de las unidades una cantidad predeterminada de un compuesto de Fórmula (I) calculada para producir un efecto terapéutico pretendido. Una forma de dosificación unitaria puede ser para una sola dosis diaria, para la administración 2 veces al día, o una de múltiples dosis diarias, p. ej., 3 o más veces al día. Cuando se usan múltiples dosis diarias, una forma de dosificación unitaria puede ser la misma o diferente para cada una de las dosis. Una o más formas de dosificación pueden comprender una dosis, que se puede administrar a un paciente en un único momento o durante un intervalo de tiempo.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I) pueden formularse para la liberación inmediata o para la liberación retardada o controlada. En este último aspecto, ciertas realizaciones, p. ej., un producto administrado por vía oral, pueden adaptarse a una liberación controlada. Tecnologías de administración controlada pueden mejorar la absorción de un fármaco en una región o regiones concretas del tracto gastrointestinal. Sistemas de administración controlada de fármacos pueden diseñarse para administrar un fármaco de tal manera que el nivel del fármaco se mantenga dentro de una ventana terapéuticamente efectiva y niveles sanguíneos efectivos y seguros se mantengan durante un período mientras el sistema continúe administrando el fármaco con un determinado perfil de liberación en el tracto gastrointestinal. La administración controlada del fármaco puede producir niveles en sangre sustancialmente constantes de un fármaco durante un período de tiempo en comparación con las fluctuaciones observadas con las formas de dosificación de liberación inmediata. Para algunos fármacos, mantener una concentración constante en sangre y tejido del fármaco durante el transcurso de la terapia es el modo de tratamiento más deseable, ya que la liberación inmediata de fármacos a menudo hace que los niveles en sangre alcancen un pico por encima del nivel requerido para provocar una respuesta deseada. Esto da como resultado el desperdicio de fármaco y/o puede causar o exacerbar efectos secundarios tóxicos. Por el contrario, la administración controlada de un fármaco puede resultar en una terapia óptima; no solo reduciendo la frecuencia de dosificación, sino también reduciendo la gravedad de los efectos secundarios. Ejemplos de formas de dosificación de liberación controlada incluyen sistemas controlados por disolución, sistemas controlados por difusión, resinas de intercambio iónico, sistemas controlados osmóticamente, sistemas de matriz erosionable, formulaciones independientes del pH y sistemas de retención gástrica.

Como se señaló, los compuestos de fórmula (I), más apropiadamente, las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I), se pueden administrar mediante cualquier método convencional. El modo específico de aplicación o administración depende, en parte, de la forma de la composición farmacéutica, el propósito principal o el objetivo de su aplicación (p. ej., la aplicación puede ser oral si se pretende abordar la enfermedad en general o de forma tópica si se intenta abordar principalmente un síntoma tópico de la enfermedad. Modos de administración adecuados incluyen, por ejemplo, intradérmico, intramuscular, intraperitoneal, intravenoso, subcutáneo, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmico, rectal, por inhalación o tópico. Modos de administración especialmente preferidos son oral, tópico o aquellos métodos que implican la absorción a través de revestimientos epiteliales o mucosos (p. ej., mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.). Además, nuevamente, dependiendo en parte de la forma y del propósito principal u objetivo de la administración, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden administrarse sistémica o localmente. Finalmente, la forma de la composición farmacéutica y su sistema de administración también pueden variar dependiendo de los parámetros ya indicados. Por ejemplo, composiciones farmacéuticas administradas por vía oral de la presente enseñanza pueden estar en forma encapsulada, p. ej., encapsuladas en liposomas, o como micropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc. De manera similar, las composiciones farmacéuticas aplicadas tópicamente de las presentes enseñanzas pueden aplicarse en forma de un líquido, crema, gel, spray, loción, etc.

De nuevo, como se indicó anteriormente, los compuestos de fórmula (I) se pueden usar tal cual, es decir, como el 100% de la composición a aplicar; sin embargo, los compuestos de fórmula (I) se incorporan preferiblemente en una composición farmacéutica en la que el compuesto o los compuestos de fórmula representan de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 99 por ciento en peso de la composición farmacéutica. Preferiblemente, los compuestos de fórmula (I) comprenderán de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 30% en peso, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20% en peso, lo más preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 10% en peso de la composición farmacéutica. Otro factor que influye en la concentración de los compuestos de fórmula (I) en la composición farmacéutica es la dosis o tasa de aplicación de los compuestos al paciente. Obviamente, la dosificación en sí depende de un cierto número de factores que incluyen la concentración y/o pureza de los compuestos de fórmula (I), la eficacia de los mismos, el individuo al que se va a administrar el fármaco, el modo de administración, la forma en que la composición farmacéutica que se va a administrar, la enfermedad o síntoma que se va a tratar, etc.

Los factores anteriores, así como la aplicación de los mismos en la formulación de las composiciones de la presente enseñanza, son todos bien conocidos en la técnica, por lo que la concentración final o real en la composición farmacéutica y/o la dosis se puede determinar fácilmente basándose en una simple prueba de dosis-respuesta, y similares. Por ejemplo, una dosis oral apropiada para una composición farmacéutica particular que contiene uno o más compuestos de fórmula (I) dependerá, al menos en parte, de las propiedades de absorción gastrointestinal del compuesto, de la estabilidad del compuesto en el tracto gastrointestinal, de la farmacocinética del compuesto y del perfil terapéutico pretendido. Una dosis oral de liberación controlada apropiada y la forma final de una composición farmacéutica que contiene un compuesto particular de Fórmula (I) también dependerá de un cierto número de factores. Por ejemplo, las formas de dosificación oral de retención gástrica pueden ser apropiadas para compuestos

absorbidos principalmente del tracto gastrointestinal superior, y las formas de dosificación oral de liberación sostenida pueden ser apropiadas para compuestos absorbidos principalmente del tracto gastrointestinal inferior. Nuevamente, es de esperar que ciertos compuestos se puedan absorber principalmente en el intestino delgado, mientras que otros se absorban principalmente a través del intestino grueso. También debe apreciarse que, si bien se acepta generalmente que los compuestos atraviesan la longitud del intestino delgado en aproximadamente 3 a 5 horas, hay compuestos que no son absorbidos fácilmente por el intestino delgado o que no se disuelven fácilmente. Por tanto, en estos casos, la ventana para la absorción del agente activo en el intestino delgado puede ser demasiado corta para proporcionar un efecto terapéutico deseado, en cuyo caso se debe canalizar la absorción del intestino grueso y/o perseguir rutas alternativas de administración.

En términos generales, una dosis apropiada de un compuesto de Fórmula (I), o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), se puede determinar de acuerdo con cualquiera de varios protocolos bien establecidos que incluyen ensayos y/o estudios de modelos in-vitro y/o in-vivo, así como ensayos clínicos. Por ejemplo, pueden usarse estudios en animales que involucren ratones, ratas, perros y/o monos para determinar una dosis apropiada de un compuesto farmacéutico. Los resultados de los estudios en animales pueden extrapolarse y normalmente se extrapolan para determinar las dosis apropiadas para su uso en otras especies, tales como, por ejemplo, seres humanos.

Como se señaló anteriormente, las composiciones de acuerdo con la presente enseñanza pueden diseñarse para la infusión o aplicación inmediata de los principios activos al cuerpo o al sitio del síntoma a tratar. Sin embargo, también se reconoce que, en ciertos casos, las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación pueden estar, y preferiblemente están, adaptadas para proporcionar una liberación sostenida o programada de un compuesto de Fórmula (I): esto es especialmente así y deseable para la administración oral. Formas de dosificación oral de liberación sostenida se utilizan para liberar fármacos durante un período de tiempo prolongado y son útiles cuando se desea que un fármaco o una forma de fármaco sea administrada al tracto gastrointestinal inferior. Formas de dosificación oral de liberación sostenida incluyen cualquier forma de dosificación oral que mantenga concentraciones terapéuticas de un fármaco en un fluido biológico, tal como el plasma, la sangre, el fluido cerebroespinal o en un tejido u órgano durante un período de tiempo prolongado. Formas de dosificación oral de liberación sostenida incluyen sistemas controlados por difusión tales como dispositivos de depósito y dispositivos de matriz, sistemas controlados por disolución, sistemas osmóticos y sistemas controlados por erosión. Formas de dosificación oral de liberación sostenida y métodos de preparación de las mismas son bien conocidos en la técnica.

Siguiendo lo anterior, la cantidad de un compuesto de Fórmula (I) contenida en una dosis puede depender de la vía de administración y de si la enfermedad en un paciente se trata eficazmente mediante administración aguda, crónica o una combinación de administración aguda y crónica. En cualquier caso, la dosis administrada es típicamente menor que una dosis tóxica: aunque puede tener efectos adversos significativos para la salud, siempre que también se logre el efecto beneficioso deseado. La toxicidad de las composiciones descritas en el presente documento puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales, p. ej., determinando la DL_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) o la DL_{100} (la dosis letal para el 100% de la población). La relación de dosis entre el efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico. En determinadas realizaciones, un compuesto o metabolito del mismo puede exhibir un índice terapéutico alto. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivo celular y estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosis que no sea tóxico para su uso en seres humanos. Una dosis de un compuesto de Fórmula (I) puede estar dentro de un intervalo de concentraciones circulantes en, por ejemplo, la sangre, el plasma o el sistema nervioso central, que incluyen la dosis eficaz y que presenta poca o ninguna toxicidad. Una dosis puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. En determinadas realizaciones, se puede administrar una dosis creciente.

En los casos en los que también están presentes principios activos farmacéuticos adicionales en las composiciones de acuerdo con la presente enseñanza, la cantidad en la que están presentes y/o la cantidad de dosificación será típicamente consistente con su concentración y tasas de aplicación convencionales. Por ejemplo, los compuestos de fórmulas II y III estarán presentes en una cantidad de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 30% en peso, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20% en peso, lo más preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 10% en peso de la composición farmacéutica. Por supuesto, como se señaló, la combinación de principios activos farmacéuticos con los compuestos de fórmula (I) también proporciona un rendimiento mejorado y/o sinergia, por lo que las cantidades de cada uno y/o la dosis de cada uno pueden ser y generalmente son menores que las requeridas para el uso de los compuestos activos por sí solos.

Habiendo descrito los compuestos, el procedimiento de fabricación de compuestos, las composiciones y los métodos de tratamiento de la invención en términos generales, ahora se dirige la atención a los siguientes ejemplos en los que se evalúan formulaciones específicas y aplicaciones de las mismas. En los ejemplos anteriores y siguientes, a menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas se expresan en grados Celsius y todas las partes y porcentajes son en peso.

Parte experimental

Ejemplo 1: Síntesis de di-(metilfumarato) de isosorbida

A una suspensión de isosorbida (50 g, 0,34 mol) en acetato de etilo (500 ml) se le añadió monometilfumarato (97,5 g, 0,75 mol), seguido de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (8,3 g, 0,06 mol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C (baño de hielo) y se añadió gota a gota una solución de diciclohexilcarbodiimida (DCC) (168 g, 0,75 mol) en acetato de etilo (800 ml). A continuación, se dejó calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Los precipitados se filtraron y lavaron con acetato de etilo (300 ml). El filtrado se concentró al vacío para dar 176 g de producto bruto. Este producto bruto se agitó en hexano (1L), se filtró y el sólido se lavó de nuevo con hexano (500 ml). Este producto sólido resultante se secó y posteriormente se purificó en un corto recorrido de gel de sílice usando acetato de etilo/hexano (0 a 50%) para dar 87 g de un sólido blanco. Este sólido se recrystalizó en acetato de etilo caliente (500 ml) para dar un total de 60 g de di-(metilfumarato) de isosorbida puro ("IDMF"), p.f. 106-108 °C, con una pureza de aproximadamente 98,5% determinada por HPLC. La estructura de IDMF fue establecida por análisis ¹HRMN y MS.

Tabla 1: Formulaciones tópicas de IDMF a niveles de 2 y 5%

Nombre INCI	Nombre comercial/Proveedor	% p/p	% p/p
Fase A-1			
Agua (desmineralizada)		Cs	Cs
EDTA disódico		0,10	0,10
Glicerina	Glicerina 99%/Ruger	2,00	2,00
Butilenglicol	Butilenglicol/Ruger	2,00	2,00
Fase A-2			
Goma xantana	Rhodicare S/Rhodia	0,10	0,10
Polímero cruzado de acrilatos/acrilato de alquilo C10-30	Carbopol Ultrez 21/Lubrizol	0,25	0,25
Fase B			
Triglicéridos caprílicos/cápricos	Myritol 318/Cognis	6,00	4,00
Aceite mineral, alcoholes de lanolina	Fancol LAO/Elementis	2,00	2,00
Oleth-10	Brij-10/Croda	0,50	0,50
Estearato de glicerilo, estearato PEG-100	Arlacel 165/Croda	2,50	2,50
Dimeticona	CC, 200/100CST/Dow Corning	3,00	2,00
Ácido esteárico	Ácido esteárico, NF/Spectrum	1,00	1,00
Alcohol cetílico	Crodacol C-70/Croda	1,50	1,50
Fase C			
Trietanolamina	Trietanolamina 99%	0,15	0,15
Fase D			
Isosorbida de dimetilo	Arlasolve DMI/Croda	6,00	15,00
IDMF (di-metilfumarato de isosorbida)	IDMF/Sytheon	2,00	5,00
Fase E			
Fenoxietanol, Etilhexilglicerina	Euxyl 9010/Schulke	1,00	1,00
Total		100,00	100,00

Ejemplo 2: Formulaciones tópicas de 2% y 5% de IDMF

Se preparó una composición farmacéutica tópica que contenía IDMF usando la fórmula que se presenta en la Tabla 1. La composición se preparó preparando las composiciones A-1 y A-2 y luego dispersando la composición A-2 en A-1 mientras se agitaba y calentaba a 75°C para formar la Fase A. Independientemente, los ingredientes de la Fase B se combinaron y luego se calentaron a 75°C. Luego se añadió la Fase B a la Fase A con buena mezcladura. La Fase C se añadió a una Fase D premezclada y luego la combinación se añadió a la Fase A/B combinada. Después, la mezcla se homogeneizó a velocidad moderada mientras se enfriaba a ~ 40°C. Se añadió un conservante y la composición se agitó hasta que se alcanzó una composición uniforme y homogénea. La composición final tenía un pH de 6,0 y una viscosidad de 30.000 - 40.000 cps (sp 4, 5 rpm).

Ejemplo 3: Formulaciones tópicas de 2% de IDMF y 2% de dilinoleato de isosorbida

Se preparó una segunda composición tópica de acuerdo con el mismo procedimiento que para la preparación de la composición tópica del Ejemplo 2, con la excepción de que se empleó una combinación de IDMF y dilinoleato de isosorbida (fórmula III). La formulación de la composición es como se presenta en la Tabla 2.

5 Tabla 2: 2% de IDMF y 2% de dilinoleato de isosorbida

Nombre INCI	Nombre comercial/Proveedor	% p/p
Fase A		
Agua (desmineralizada)		Cs
EDTA disódico		0,10
Glicerina	Glicerina 99%/Ruger	2,00
Butilenglicol	Butilenglicol/Ruger	2,00
Fase A-1		
Goma xantana	Rhodicare S/Rhodia	0,10
Polímero cruzado de Acrilatos/Acrilato de Alquilo C10-30	Carbopol Ultrez 21/Lubrizol	0,25
Fase B		
Triglicéridos Caprílicos/Cápricos	Myritol 318/Cognis	4,00
Dilinoleato de isosorbida	Hydrasynol IDL/Sytheon	2,00
Aceite Mineral, Alcoholes de Lanolina	Fancol LAO/Elementis	2,00
Oleth-10	Brij-10/Croda	0,50
Estearato de Glicerilo, Estearato de PEG-100	Arlacel 165/Croda	2,50
Dimeticona	DC, 200/100CST/Dow Corning	3,00
Ácido Esteárico	Ácido Esteárico, NF/Spectrum	1,00
Alcohol Cetílico	Crodacol C-70/Croda	1,50
Fase C		
Trietanolamina	Trietanolamina 99%	0,15
Fase D		
Isosorbida de dimetilo	Arlasolve DMI/Croda	6,00
IDMF (di-metilfumarato de isosorbida)	IDMF/Sytheon	2,00
Fase E		
Fenoxietanol, Etilhexilglicerina	Euxyl 9010/Schulke	1,00
Total		100,00

Ejemplo 4: Efectos Anti-Psoriásicos de IDMF en Cultivos de Queratinocitos Psoriasiformes

Se establecieron cultivos de queratinocitos psoriasiformes incubando progenitores de queratinocitos epidérmicos de *estratum basae* (Zen-Bio, RTP, NC) con IL-17A/IL-22/TNF α (100 μ g/ml; 100 μ g/ml; 10 μ g/ml) durante 24 h. Se ha informado que estas citocinas son desencadenantes clave en la psoriasis (Y Tokura, T Mori, R Hino, *Psoriasis and other Th17-mediated skin diseases*. J UOEH, 32 (4): 317-328, 2010; AB Van Belle, M de Heusch, MM Lemaire, E Hendrickx, G Warnier, K Dunussi-Joannopoulos, LA Fouser, JC Renauld, L Dumoutier, *IL-22 is required for imiquimod-induced psoriasiform skin inflammation in mice*, J Immunol, 188 (1): 462-469, 2012; A Hänsel, C Günther, J Ingwersen, J Starke, M Schmitz, M Bachmann, M Meurer, EP Rieber, K Schäkel, *Human skin (6-sulfo LacNAc) dendritic cells are inflammatory dermal dendritic cells in psoriasis and drive strong TH17/TH1 T-cell responses*, J Allergy Clin Immunol, 127(3):787-794, 2011; Kim J, Krueger JG. *The Immunopathogenesis of Psoriasis*, Dermatol Clin, 33:13-23, 2015).

En nuestro sistema de queratinocitos, IL-17A/IL-22/TNF α desencadenó la modulación de la expresión de genes, tales como DEFB4A (18,9 veces), HPGD (-84,5 veces), CXCL3 (3,3 veces) e IL8 (40,7 veces), conocidas por estar implicado en la psoriasis (M Simanski, F Rademacher, L Schroder, HM Schumacher, R Glaser, J Harder, *IL-17A e IFN- γ synergistically induce RNase 7 expression via STAT3 in primary keratinocytes*, PLoS One, 2013;8(3):e59531, 2013; O Arican, M Aral, S Sasmaz, P Ciragil, *Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients*, Mediators Inflamm, (5):273-279, 2005; K Ikai, *Psoriasis and the arachidonic acid cascade*, J Dermatol

Sci, 21 (3): 135-146, 1999; K Guilloteau, I Paris, N Pedretti, K Boniface, F Juchaux, V Huguier, G Guillet, FX Bernard, JC Lecron, F Morel, *Skin Inflammation Induced by the Synergistic Action of IL-17A, IL-22, Oncostatin M, IL-1 {alpha} and TNF-{alpha} Recapitulates Some Features of Psoriasis*, J Immunol, 184(9):5263-5270, 2010; AB Van Belle, M de Heusch, MM Lemaire, E Hendrickx, G Warnier, K Dunussi-Joannopoulos, LA Fouser, JC Renault, L Dumoutier, IL022 is required for imiquimod-induced psoriasiform skin inflammation in mice, J Immunol, 188(1) 462-469, 2012). IL-17A/IL-22/TNF α también causó alteraciones morfológicas psoriasiformes en estas células (compárese la FIG. 1A no tratada con citocina con la FIG. 1B - tratada con citocina). Estos cambios morfológicos dan como resultado células de "huevo frito" senescentes (véanse las flechas en la FIG. 1B) que recuerdan el fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP).

Después de 24 h de tratamiento con citocinas, se añadieron los materiales de prueba IDMF a las células y se prosiguió con la incubación con IL-17A/IL-22/TNF α durante otras 24 h. Al final del experimento, se extrajo el ARN total de los queratinocitos y se cuantificó utilizando micromatrices de ADN. La cuantificación de micromatrices de ADN demostró claramente un efecto anti-citocina general de IDMF, con una inhibición significativa de las respuestas de TNF α /IFN γ /IL-17, mientras que las vías antioxidantes, especialmente las relacionadas con el glutatión, se regularon al alza, lo que demuestra el mecanismo de acción típico del DMF. Además, el estudio demostró que el IDMF regulaba a la baja un cierto número de genes. Estos genes tienen un enriquecimiento para los sitios de unión de NF κ B y STAT1 en su región aguas arriba, lo que agrega más evidencia del mecanismo de fijación de objetivo de TNF α /IFN γ /IL-17 de IDMF.

La Tabla 3 presenta los datos pertenecientes a los procesos biológicos relevantes para la psoriasis regulados a la baja de manera más significativa por 1 μ g/ml de IDMF en queratinocitos psoriasiformes, como lo revela el enfoque de micromatrices de ADN. La Tabla 4 presenta los datos pertenecientes a los procesos biológicos relevantes para la psoriasis regulados al alza de manera más significativa por 1 μ g/ml de IDMF en queratinocitos psoriasiformes, como lo revela el enfoque de micromatrices de ADN. Téngase en cuenta la regulación a la baja de las respuestas inflamatorias, con énfasis en el interferón- γ (completo con su inhibición aguas abajo de ICAM1- véase la Tabla 4), y la regulación al alza de las vías parece involucrar la homeostasis redox y los procesos de síntesis de glutatión, que son las características distintivas del mecanismo de acción del DMF.

Con base en estos hallazgos, parece que los genes disminuidos por IDMF se correlacionan significativamente con genes aumentados en células psoriásicas y piel, que se correlacionan inversamente con genes aumentados por fármacos antipsoriásicos en pacientes, lo que confirma el potencial antipsoriásico de IDMF. Por ejemplo, utilizando el valor de la estadística de enriquecimiento basado en la ecuación (8) de la publicación de AA Philippakis (AA Philippakis, BW Busser, SS Gisselbrecht, FS He, B Estrada, AM Michelson, ML Bulyk, *Expression-guided in silico evaluation of candidate cis regulatory founder cells*, PLoS Comput. Biol, 2(5): e53, 2006), se encontró que los genes fuertemente disminuidos por IDMF estaban fuertemente elevados en los queratinocitos cultivados después del tratamiento con la combinación TNF α /IFN γ (número de acceso GSE 20297), con TNF α /IL-17A, IFN γ (GSE12109; GSE7216), IL1 (GSE9120) o TNF α (GSE24767; GSE36287; GSE32975). Una fuerte correlación similar (estadística > 200, $p < 10^{-8}$) se encontró entre genes disminuidos por IDMF y aquellos aumentados en psoriásico (GSE6710; GSE9120; GSE36387; GSE11903; GSE30999), carcinoma (GSE2503), queratosis actínica (GSE2503), dermatomiosítica (GSE32245) y atópica (GSE5667) frente a piel normal. Hubo una fuerte correlación positiva entre los genes inducidos por IL13 antiinflamatoria e IDMF (GSE36287; stat.154, $p < 10^{-7}$).

Tabla 3: Vías relevantes para la psoriasis en queratinocitos psoriasiformes disminuidas por IDMF (1 μ g/ml)		
GOBPID	valor p	Término
GO:0002685	0,000	regulación de la migración de leucocitos
GO:0090023	0,000	regulación positiva de la quimiotaxis de neutrófilos
GO:0006955	0,000	respuesta inmune
GO:0060333	0,002	Vía de señalización mediada por interferón gamma
GO:0060337	0,002	Vía de señalización mediada por interferón tipo I
GO:0034340	0,002	respuesta al interferón tipo I
GO:2000145	0,002	regulación de la motilidad celular
GO:0030335	0,004	regulación positiva de la migración celular
GO:0034341	0,005	respuesta al interferón-gamma
GO:0006954	0,007	respuesta inflamatoria
GO:0071347	0,012	respuesta celular a la interleucina-1
GO:0032680	0,017	regulación de la producción del factor de necrosis tumoral
GO:0071706	0,019	superfamilia del factor de necrosis tumoral producción de citocinas
GO:0071345	0,019	respuesta celular al estímulo de citocinas

GO:0071356	0,024	respuesta celular al factor de necrosis tumoral
GO:0002697	0,026	regulación del proceso efector inmunológico
GO:0002684	0,028	regulación positiva del proceso del sistema inmunológico
GO:0002285	0,029	activación de linfocitos implicada en la respuesta inmunitaria
GO:0001819	0,033	regulación positiva de la producción de citocinas
GO:0045321	0,035	activación de leucocitos
GO:0017015	0,046	regulación de la vía de señalización del receptor de TGFβ

Además, los genes disminuidos por IDMF tienden a estar fuertemente disminuidos en las lesiones de psoriasis de pacientes tratados con etanercept (GSE11903; stat.-204, $p < 10^{-5}$), efalizumab (GSE30768; stat.-141; $p = 0,001$) o el agente biológico anti-IL17A LY2439821 (GSE31652; (stat.-193, $p < 10^{-4}$). En general, hubo más de 200 correlaciones de expresión génica significativas (estadística $> 0,05$ / $< -0,05$; $p < 0,05$) a favor de la actividad antipsoriásica y antidematitis de IDMF. Fue especialmente alentador ver una respuesta anti-dermatitis para un compuesto derivado de una molécula parental sensibilizante de la piel (a pesar de las obvias limitaciones de un modelo de cultivo de queratinocitos). En el lado negativo, IDMF parecía obstaculizar una vía de respuesta de defensa, porque los genes disminuidos por IDMF también muestran enriquecimiento para un sitio IRF en las regiones aguas arriba (también ISRE), y estos mismos genes tienden a ser inducidos en los queratinocitos por el tratamiento con poli(I:C). Ácido polinosínico:policitídico (generalmente abreviado poli(I:C) es un inmunoestimulante y es un adyuvante utilizado para el tratamiento antitumoral y las vacunas debido a sus efectos prominentes sobre las células T CD8 y las células NK. Poli(I:C) se une a TLR3 y se cree que esta interacción es fundamental para impulsar las respuestas inmunitarias mediadas por células (*J Immunology*, 181 (11): 7670-7680, 2008). Curiosamente, IDMF ha retenido al menos algo del efecto biocida de DMF, posiblemente compensando parcialmente la disminución de la vía de respuesta de defensa.

Tabla 4: Vías relevantes para la psoriasis en queratinocitos psoriasiformes aumentadas por IDMF (1 µg/ml)

GOBPID	Valor p	Término
GO:0006693	0,000	proceso metabólico de prostaglandinas
GO:0045454	0,004	homeostasis redox celular
GO:0006749	0,005	proceso metabólico del glutatión
GO:0006749	0,005	proceso metabólico del glutatión
GO:0072593	0,010	proceso metabólico de especies reactivas de oxígeno
GO:0042592	0,010	proceso homeostático
GO:0006750	0,012	proceso biosintético del glutatión
GO:0006968	0,033	respuesta de defensa celular
GO:1901687	0,033	proceso biosintético derivado del glutatión
GO:1901687	0,033	proceso biosintético derivado del glutatión
GO:0006879	0,034	homeostasis celular de iones hierro
GO:0002065	0,039	diferenciación de células epiteliales columnar/cuboidal
GO:0050931	0,040	diferenciación de células pigmentarias
GO:0032755	0,043	regulación positiva de la producción de interleucina-6

Además, como se muestra en la Tabla 5, IDMF parece suprimir las vías controladas por interferón en los queratinocitos psoriasiformes al reprimir múltiples genes (última columna) con un enriquecimiento significativo/sobre-representación de motivos STAT1 y NFκB (primera columna) en su región aguas arriba (1 kb). La inducción de vías mediadas por IFN asociadas con los sitios de unión de STAT1 es una firma sólida en las lesiones psoriásicas. El enriquecimiento de los motivos se calculó utilizando modelos logísticos aditivos generalizados semiparamétricos.

Tabla 5 Efecto de IDMF sobre las vías controladas por interferón

Motivo	ID de motivo	Estimación	SE	Estadística Z	Valor p	Dianas STAT1/NFKB previstas reguladas a la baja por IDMF
NFKB GGGRAWTYCC	NF_kappaB_disc1	0,90	0,29	3,14	0,0016	RHCG MMP9 GBP1 KCTD11 PLAT NFKBIZ COBLL1 IL1R2 BPGM IL36G IL23A
STAT1 RGAAANYGAAACT MA0137	J9365	1,28	0,43	3,01	0,0026	DDX60 MX2 OAS2
STAT1 GRAANNNGAAAST	STAT_disc3	1,21	0,31	3,95	7,77E-05	IFI44L MX2 DDX60 SAMD9L GBP1 OAS2
NFKB GGGACTTYCCA M00208	M00208	1,52	0,39	3,86	0,0000	LTBP1 SLCO4A1 PLACA ABCA1 NFKBIZ PDZK1IP1 IL36G
STAT1 TTTCC M00496	M00496	0,050	0,03	2,01	0,0449	SLC6A14 IL36G IFI44L IL36RN LNx1 BPGM SPINK6 DDX60 OAS2 IL1R2 CAPNS2 CD200 GBP1 NFKBIZ EDN1 KRT75 ICAM1 (...)

Ejemplo 5: Efectos Anti-Psoriásicos en el Modelo de Cola Murina de Psoriasis

- La prueba de la cola del ratón es un modelo animal bien establecido que se utiliza para el desarrollo de fármacos contra la psoriasis aprobados por la FDA. La Tabla 6 resume los hallazgos después de 2 semanas de aplicación del material de prueba en las colas, con la lectura de la mejora en *estrato granuloso* (StGrm) cobertura +/- efectos secundarios. Los beneficios de IDMF consistieron en una extensión significativa de la cobertura de StGrm y un modesto aumento del grosor epidérmico sin inflamación (medido por la falta de infiltrado leucocítico), para- ni hiperqueratosis. El control positivo Tazaroteno (un retinoide aprobado para la psoriasis) también extendió la cobertura, pero con una compensación de los efectos adversos que se manifiestan como hiperqueratosis sustancial, espongiosis e inflamación generalizada. La falta de inflamación con IDMF fue una confirmación más de nuestros resultados *in vitro* que indican ausencia de sensibilización cutánea, un efecto inherente a la molécula madre, DMF.

Tabla 6. Efecto de IDMF sobre la estructura epidérmica en el modelo de cola de ratón en comparación con la crema Rx Tazaroteno.

Material de examen	Control (FIG. 2A) (sin tratamiento)	IDMF (FIG. 2B) (2% en butilenglicol/glicerina)	Tazarac (FIG. 2C) (tazaroteno al 0,1%)
Observaciones de la cola > (StCr = <i>estrato córneo</i>) (StGrm = <i>Estrato granuloso</i>)	Epidermis normal de la cola (3-4 capas de espesor, muy limitada <i>estrato granuloso</i> (StGrm).	Aumento del grosor epidérmico (4-5 capas), StCr normal en textura, sin infiltrado inflamatorio, capa granular extendida.	Acantosis marcada (8 capas) con espongiosis focal, infiltrado de leucocitos, hiperqueratosis con StGrm masivo, enrojecimiento generalizado de la cola.
Expansión StGrm	100 (p = 1)	134 (p < 0,0001)	485 (p < 0,0001)

- Las FIGS 2A, 2B y 2C son fotomicrografías (aumento de 40x) de secciones histológicas teñidas con H & E de las secciones de piel de la cola de los ratones caracterizadas en la Tabla 6, en la que la FIG. 2A muestra la sección de la cola que no ha sido tratada y las FIGS. 2A y 2B muestran las secciones que han sido tratadas con IDMF (2% en DMI/glicerina) y crema de tazaroteno (tazaroteno al 0,1%), respectivamente. La flecha en cada una de las microfotografías apunta al StGrm (*estrato granuloso*), que, como se señaló, es mínimo en el control.

Ejemplo 6: Modelo de Fibroblasto Humano

- El mecanismo de acción similar a DMF de IDMF se confirmó adicionalmente mediante PCR en fibroblastos dérmicos humanos (HDF) tratados con TNF α . Brevemente, las células cultivadas en DMEM/FBS al 5% se enfrentaron a TNF-alfa (10 ng/ml) durante 24 h, después se añadieron materiales de prueba en el mismo medio que contenía TNF-alfa y se incubaron con HDF durante otras 24 h. Al final de la incubación, se lisaron las células y se extrajo el ARN total

con el kit NucleoSpin RNA II (Machery-Nagel; Bethlehem, PA). El ARN total purificado se evaluó a 260 nm y 280 nm con el espectrofotómetro PERKIN ELMER MBA2000 UV/VIS y la concentración de ARN se ecualizó en todas las muestras. El ADNc se sintetizó con el kit de transcripción inversa QuantiTect y los productos génicos se cuantificaron utilizando pares de cebadores RealTimePrimers (Elkins Park, PA) y la mezcla maestra SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNase HPlus) (Takara, Japón), con el sistema de detección BioRad iCycler iQ. Se realizó la normalización a la expresión de genes de mantenimiento para calcular el cambio de veces en relación con el control de agua. Los genes se consideraron expresados diferencialmente si el nivel de expresión era razonablemente alto (< 30 ciclos para detectar) y la modulación era ≥ 2 veces.

Se encontró que tanto DMF (5 µg/ml) como IDMF (1 µg/ml) aumentaron significativamente (> 2 veces la diferencia) la expresión de NRF2 y disminuyeron la expresión de NFkB después de solo 24 horas de tratamiento. Sin embargo, sorprendentemente, IDMF no aumentó la expresión de IL8 y en realidad disminuyó la expresión de COX-2 (-2,4 veces), los cuales están relacionados con la sensibilización de la piel, lo que evidencia una falta de sensibilización de la piel y respalda su utilidad como tratamiento tópico.

Ejemplo 7: Estudios de Seguridad

Ejemplo 7.1: Falta de fototoxicidad en el modelo 3T3 (OCDE)

El ensayo de fototoxicidad de captación de rojo neutro 3T3 se basó en las Directrices de la OCDE para pruebas de sustancias químicas: nº 423, con clorpromazina y tazaroteno como controles positivos. Los resultados demuestran que IDMF no es fototóxico incluso a la concentración máxima requerida para la prueba (100 µg/ml), mientras que tazaroteno y clorpromazina tenían PIF > 6 técnicamente validando el ensayo. Esto sugiere que, a diferencia de otros fármacos tópicos, tal como el tazaroteno retinoide antipsoriásico, el IDMF no tiene sensibilidad a la radiación y se cree que es compatible con la fototerapia antipsoriásica (PUVA).

Ejemplo 7.2: Falta de mutagenicidad en el modelo de genotoxicidad AMES

La prueba de genotoxicidad AMES, un protocolo estándar para el establecimiento del potencial mutagénico de los principios activos tópicos se llevó a cabo utilizando el ensayo de mutagenicidad MOLTOX Salmonella con 2 cepas (TA1535, TA1537) de *S. typhimurium* que contienen diferentes mutaciones de los genes implicados en la síntesis de histidina. La Tabla 7 muestra que IDMF no fue genotóxico, incluso a la concentración más alta requerida para la prueba (5 mg/ml). Como referencia, debe apreciarse que los valores se expresan como porcentaje (%) del número de colonias mutantes que ocurren espontáneamente en el control de agua: el control positivo fue Azida Sódica (15 µg/ml) para TA1535 e ICR 191 Acridina (10 µg/ml) para TA1537.

Tabla 7: Prueba de Mutagenicidad

Material de examen	% CTR (TA1535)	% CTR (TA1537)
H2O	100	100
DMSO	100	100
(+) CTR	2161	18574
IDMF 5 mg/ml	18	13
IDMF 1 mg/ml	64	30
IDMF 200 µg/ml	68	91
IDMF 40 µg/ml	89	117
IDMF 8 µg/ml	96	83

Ejemplo 7.3: Falta de irritación y sensibilización de la piel en el RIPT humano

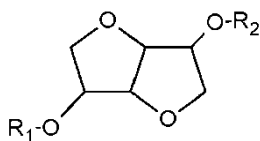
Después de observar una actividad antiinflamatoria beneficiosa *in vitro*, sin efecto inflamatorio en el modelo animal y sin genotoxicidad, IDMF se probó adicionalmente en la prueba de parche de agresión repetida humana (HRIPT) aprobada por el IRB en 100 voluntarios adultos sanos para determinar su potencial de irritación y sensibilización de la piel. El IDMF se formuló en una base de butilenglicol/glicerina idéntica a la utilizada en animales y fue probado al 2% y al 5% por un laboratorio independiente (Cantor Research Laboratories, Inc., Blauvelt, NY, estudio nº M-0106A y M-0106B). La prueba se realizó de acuerdo con el protocolo "Evaluación de la seguridad de los Productos Químicos en Alimentos, Fármacos y Cosméticos" emitido por la FDA. Se encontró que en la escala de sensibilización/irritación de la piel 0-5, la formulación de IDMF obtuvo una puntuación de cero (0) en el 100% de los participantes. Curiosamente, no se observó enrojecimiento con IDMF, mientras que el enrojecimiento es un efecto secundario clave del dimetilfumurato (DMF). Por lo tanto, la conclusión del estudio fue que la formulación de IDMF probada no era sensibilizante ni irritante.

Los hallazgos y datos anteriores demuestran claramente que el nuevo derivado del conocido fármaco antipsoriasis

- 5 DMF - IDMF - tiene actividad antipsoriásica similar a la DMF *in vitro*, y una actividad antipsoriásica en el modelo de cola de ratón, pero parece que carece de los efectos de sensibilización cutánea característicos de su molécula madre. Por consiguiente, estos hallazgos demuestran que el IDMF y los compuestos relacionados que se describen en el presente documento proporcionan un fármaco antipsoriasis nuevo y potente. También demuestra que estas composiciones se pueden aplicar o administrar por vía tópica, evitando así también los efectos secundarios sistémicos graves del DMF.

REIVINDICACIONES

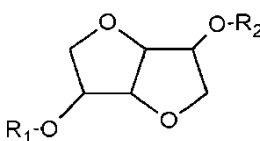
1. Un compuesto de acuerdo con la fórmula general (I):



(I)

5 en la que R₁ y R₂ son ambos -C(O)CH=CH-C(O)OMe o uno de R₁ y R₂ es H y el otro es C(O)CH= H-C(O)OMe, pero excluyendo los compuestos en los que tanto R₁ como R₂ son grupos metilmaleato.

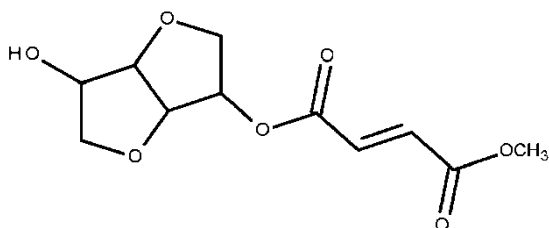
2. Un compuesto de acuerdo con la fórmula general (I):



(I)

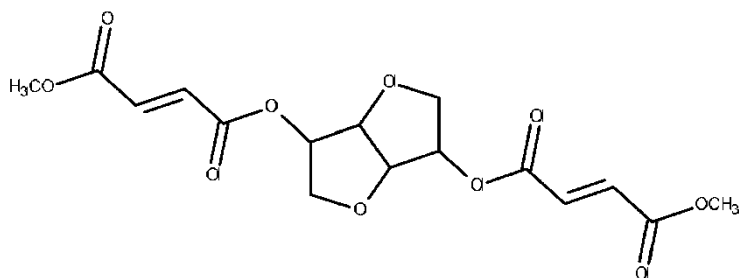
en la que R₁ y R₂ son ambos -C(O)CH=CH-C(O)OMe o uno de R₁ y R₂ es H y el otro es -C(O)CH=CH-C(O)OMe para su uso en el tratamiento de la psoriasis.

10 3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto es de fórmula (I)(a):



(I)(a).

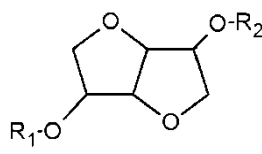
4. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto es de fórmula (I)(b)



(I)(b).

5. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto es di-(metilfumarato) de isosorbida.

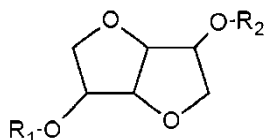
15 6. Una composición que comprende uno o más compuestos de acuerdo con la fórmula general I:



(I)

en la que R₁ y R₂ son ambos -C(O)CH=CH-C(O)OMe o uno de R₁ y R₂ es H y el otro es C(O)CH=CH-C(O)OMe en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

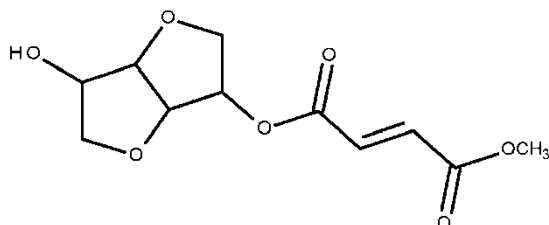
- 5 7. Una composición para uso en el tratamiento de la psoriasis, que comprende al menos un compuesto de acuerdo con la fórmula general (I):



(I)

en la que R₁ y R₂ son ambos -C(O)CH=CH-C(O)OMe o uno de R₁ y R₂ es H y el otro es -C(O)CH=CH-C(O)OMe.

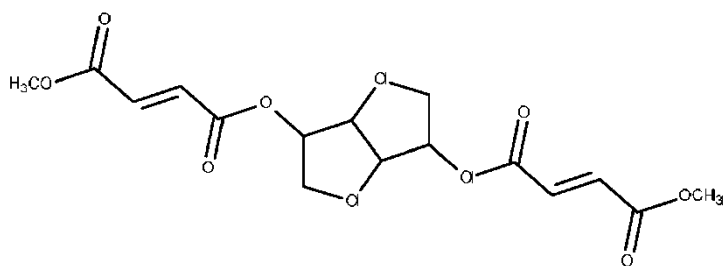
8. La composición o composición para uso de la reivindicación 6 o 7, en donde al menos un compuesto de fórmula 1 es un compuesto de acuerdo con la fórmula (I)(a)



(I)(a)

10

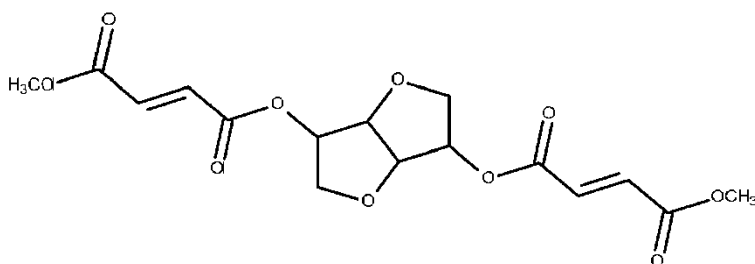
o fórmula (I)(b)



(I)(b)

o una combinación de uno o más compuestos de fórmula (I)(a) y (I)(b).

- 15 9. La composición o composición para uso de cualquiera de las reivindicaciones 6 o 7, en donde al menos un compuesto de fórmula (I) es un compuesto de acuerdo con la fórmula (I)(b)



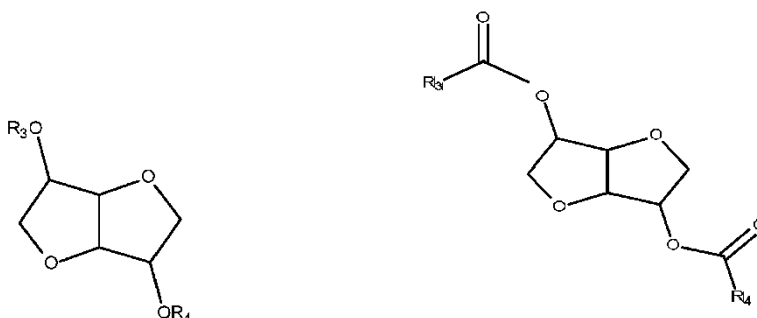
(I)(b).

10. La composición o composición para uso de la reivindicación 6 o 7, en donde al menos un compuesto de fórmula (I) comprende di-(metilfumarato) de isosorbida.

5 11. La composición o composición para uso de cualquiera de las reivindicaciones 6 o 7, en donde el al menos un compuesto de fórmula (I) comprende una combinación de di-(metilfumarato) de isosorbida y mono- (metilfumarato) de isosorbida.

12. La composición o composición para uso de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, que comprende, además, al menos otro principio activo farmacéutico.

10 13. La composición o composición para su uso de la reivindicación 12, en donde el al menos otro principio activo farmacéutico es uno o más compuestos correspondientes a las fórmulas II y/o III:



(II)

(III)

en donde R₃ y R₄, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan independientemente de grupos alquilo de cadena lineal o ramificada, saturados o insaturados que tienen de 4 a 30 átomos de carbono, siempre que cuando R₃ y R₄ sean diferentes, uno de R₃ o R₄ es hidrógeno o un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, saturado o insaturado de 1 a 30.

14. La composición o composición para su uso de la reivindicación 13, en donde el principio activo farmacéutico adicional es de fórmula III y los grupos alquilo de R₃ y R₄ tienen de 16 a 18 átomos de carbono.

15. La composición o composición para su uso de la reivindicación 13, en donde el principio activo farmacéutico adicional es dilinoleato de isosorbida.

FIG. 1A

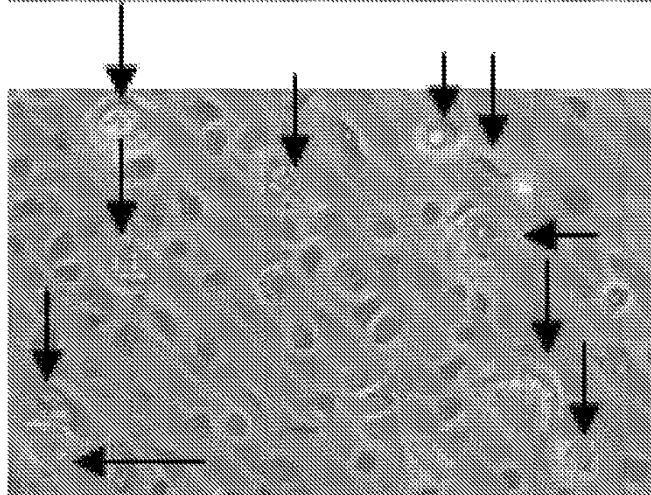
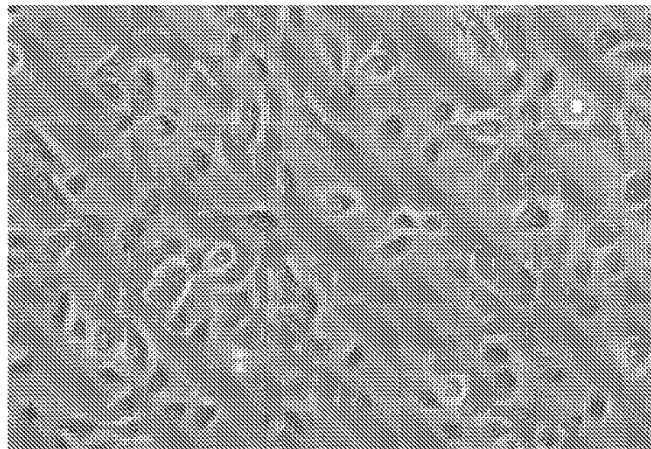


FIG. 1B

FIG. 2A

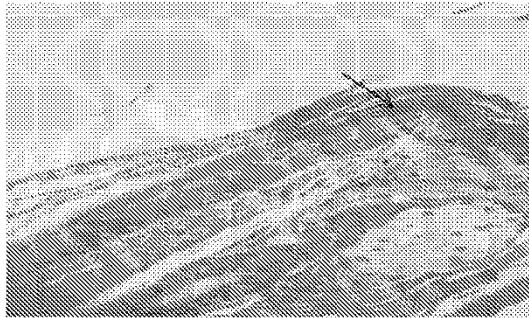


FIG. 2B

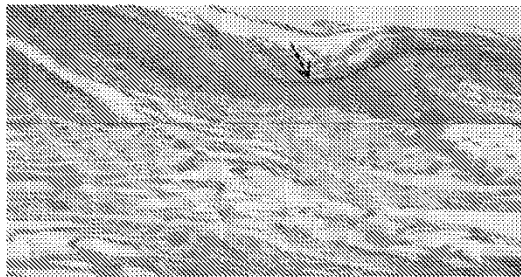


FIG 2C

