(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 400 028**

(51) Int. CI.:

C07C 309/60 (2006.01)
C07C 317/46 (2006.01)
A61K 31/10 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2008 E 08850100 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2012 EP 2220036**

(54) Título: **Derivados de dioxoantraceno sulfonato**

(30) Prioridad:

16.11.2007 EP 07022268

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.04.2013

(73) Titular/es:

LABORATOIRE MEDIDOM S.A. (100.0%)
ENETRIEDERSTRASSE 44
6060 SARNEN, CH

(72) Inventor/es:

CARLINO, STEFANO y
DI NAPOLI, ALESSANDRO

(74) Agente/Representante:

RODRÍGUEZ ÁLVAREZ, Francisco José

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de dioxoantraceno sulfonato.

La presente invención se refiere a ciertos derivados del dioxoantraceno sulfonato, a un proceso para su preparación y la utilización del compuesto como un medicamento, especialmente en la terapia de condiciones que están influidas mediante citoquinas (citocinas) proinflamatorias de la familia IL-1, particularmente enfermedades inflamatorias y autoinmunes, por ejemplo, enfermedades artríticas.

Para un número de aplicaciones farmacéuticas son conocidas la reína, 4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico y su derivado diacetilado, la diacereína. Son conocidas, de una manera especial, la reína y la diacereína para su utilización en el tratamiento de las enfermedades artríticas, en particular la osteoartritis y la artritis reumatoide, por ejemplo como se describe en US 4.244.968, GB 1 578 452, EP 544 880 B1, EP 602 636 B1 y EEUU 6.610.750 y en la psoriasis y condiciones asociadas, como se describe en EP 1 248 608 B1. La reína y la diacereína también se han descrito para el tratamiento de diversas afecciones, por ejemplo enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, enfermedades vasculares, alivio del dolor, nefrosis diabética.

Se considera que las citoquinas IL-1 (α, β) y TNF-α juegan un papel esencial en la mediación de la degradación del proceso inflamatorio y del cartílago. Se considera también que las Il-1 y TNF-α están implicadas en la mediación de las respuestas biológicas a las endotoxinas y otros estímulos infecciosos. Una extensa revisión de las citoquinas proinflamatorias y anti-inflamatorias está realizada por C.A.Dinarello, MD y L.L.Moldawer, PhD en el manual para médicos "Citoquinas proinflamatorias y anti-inflamatorias en Artritis Reumatoide", 2000, Amgen Inc. Las citoquinas IL-1 y TNF-α han estado implicadas en el mecanismo de una variedad de condiciones inflamatorias y autoinmunes como osteoartritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedad de Paget, osteoporosis, enfermedades inflamatorias intestinales incluyendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, endometriosis, granulomatosis de Wegener, disfunciones neurológicas como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, mieloma, leucemia mieloide, metástasis ósea, nefrosis diabética, enfermedad crónica del corazón, arterioesclerosis, asma.

Se conoce que la diacereína y su metabolito activo, la reína, inhiben la síntesis y la actividad de las citoquinas catabólicas pro-inflamatorias de la familia interleuquinas-1 (IL-1), especialmente IL-1β. La reína y la diacereína han demostrado que inhiben la expresión de IL-6, IL-8 y otras citoquinas tales como el factor de la necrosis del tejido (TNF-α). La inhibición de las citoquinas inflamatorias IL-1 y TNF-α mediante reína y la diacereína se describe, por ejemplo, en WO 02/058681, WO 01/051044, J. Martel-Pelletier et al. Journal of Rheumatology, 1998, págs., 753-762, E. Douni et al. Arthritis Res Ther, 2004, 6: R65-R72.

Los condrocitos de pacientes que sufren de estas condiciones expresan altos niveles de TNF-α y IL-1, comparados con los condrocitos de individuos sanos y este mecanismo específico de acción de la reína como un inhibidor de la IL-1 se cree que explica, al menos en parte, la efectividad de la reína y la diacereína en el tratamiento de algunas condiciones artríticas, por ejemplo, artritis reumatoide, osteoartritis y la artritis psoriásica.

Sin embargo, el metabolito Aloe-emodina, presente en la diacereína, ha demostrado tener efecto clastogénico en las células del colon y del riñón. La genotoxicidad de Aloe-emodina, probado por el análisis Comet, ha sido comunicada, por ejemplo, por S.O. Müller et al., Mutation Research, 371, (1996), 165-173.

Adicionalmente, la reína y la diacereína tienen el inconveniente de ser poco solubles en solución acuosa, haciendo difícil la preparación de formas farmacéuticas, en las cuales el agente terapéutico es biodisponible. La pobre solubilidad de la reína y la diacereína es un problema especial con respecto a las formulaciones para administración parenteral.

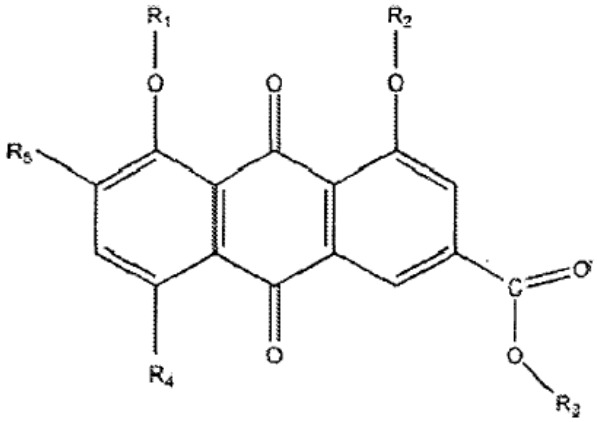
Se sabe que la diacereína y su metabolito activo la reína, tienen una tendencia a producir efectos laxantes en el tratamiento de pacientes a largo plazo. Se cree que este efecto laxante se puede atribuir, por lo menos en parte, a la muy pobre solubilidad de la reína y la diacereína.

Existe una necesidad actual de proporcionar más compuestos para el tratamiento o la terapia de condiciones que están influidas o mediadas por citoquinas proinflamatorias, de la familia IL-1, especialmente las enfermedades inflamatorias y auto-inmunes, incluyendo las enfermedades artríticas.

Aún sería más ventajoso proporcionar compuestos alternativos con actividad para la inhibición de las citoquinas proinflamatorias de la familia IL-1 y que permitan controlar ciertos inconvenientes de la reína y/o la diacereína.

Todavía más ventajoso sería proporcionar compuestos con una actividad mejorada para la inhibición de las citoquinas proinflamatorias de la familia IL-1.

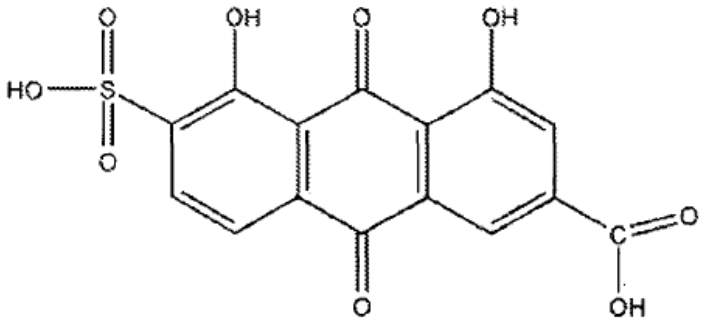
Ahora, en la invención, se proporcionan nuevos compuestos farmacéuticos de la fórmula (I):



(I)

en donde R_1, R_2, R_3 son cada uno independientemente H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4};
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H o un grupo de fórmula $-SO_3R_6$, en donde R_6 es H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4}; con la salvedad de que al menos uno de los R_4 y R_5 es un grupo de fórmula $-SO_3R_6$.

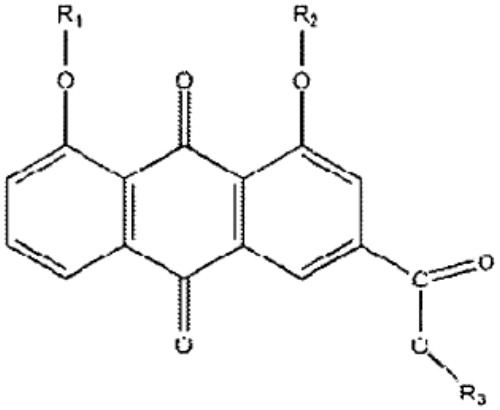
Según una Realización particular de la presente invención se proporciona en ella, un compuesto de la fórmula (I) en donde R_1, R_2, R_3 y R_4 son H y R_5 es - SO_3H (fórmula (III)).



(III)

Inesperadamente se ha encontrado por los inventores que compuestos de la fórmula (I) son capaces de inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias de la familia IL-1. Los compuestos de la fórmula (I), en donde R_4 y/o R_5 es $-SO_3H$, también han demostrado que muestran ventajosas características de solubilidad.

Según un aspecto de la presente invención se proporciona en ella un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula (I), que incluye tratar el correspondiente compuesto de la fórmula (II):



Donde R_1, R_2 y R_3 son cada uno independientemente H, con ácido sulfúrico.

Según un aspecto de la invención ahora se proporciona en ella una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la fórmula (I) en combinación con los excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables.

Según otros aspectos adicionales, la presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I) para su utilización como un medicamento de aplicación humana o veterinaria, a un compuesto de fórmula (I) para el

tratamiento de las condiciones que son mediadas o influidas por citoquinas de la familia IL-1, particularmente para el tratamiento de enfermedades inflamatorias o autoinmunes, a la utilización de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de las condiciones mediadas o influidas por citoquinas de la familia de IL-1, particularmente las enfermedades inflamatorias o autoinmunes y a un método para el tratamiento de una condición mediada o influida por citoquinas de la familia IL-1, que comprende la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I).

Otros objetivos y ventajas de la presente invención serán evidentes en las Reivindicaciones y en la siguiente descripción detallada, en los ejemplos y en los dibujos que los acompañan.

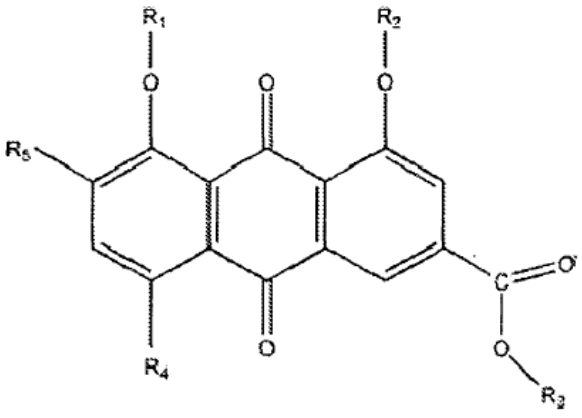
Las Figuras 1(a), 1(b) y 1(c) muestran los espectros ^{1}H-NMR de un compuesto según la presente invención;

La Figura 2 muestra el análisis MS (espectrometría de masas) del mismo compuesto según la invención presente;

La Figura 3 es una representación gráfica que muestra los efectos de un compuesto según la presente invención en la inhibición de la producción de citoquinas IL-1β en condrocitos humanos; y

La Figura 4 es una representación gráfica que muestra la inhibición dosis-dependiente de la producción de citoquinas IL-1β en condrocitos humanos mediante un compuesto según la presente invención.

La presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I):



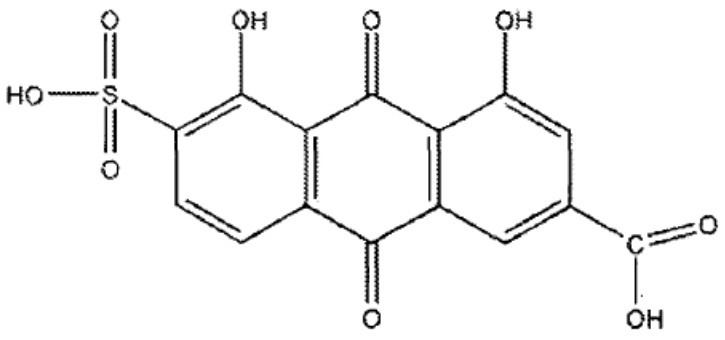
(I)

Donde R_1, R_2, R_3 son cada uno independientemente H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4};
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H o un grupo de fórmula $-SO_3R_6$, en donde R_6 es H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4}, con la salvedad de que al menos uno de los R_4 y R_5 es un grupo de fórmula $-SO_3R_6$.

Según una Realización de la invención R_1 y R_2 se seleccionan independientemente de H, un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4}; R_3 es H, y R_4 y R_5 pueden ser H o $-SO_3H$, con la salvedad de que al menos uno de los R_4 y R_5 es $-SO_3H$.
En una Realización preferente, R_1 y R_2 son tanto H o ambos grupos acetilo, R_3 y R_4 son ambos H y R_5 es $-SO_3H$.

Según una Realización de la invención R_1 y R_2, R_3 son H y R_4 y R_5 son independientemente H o $-SO_3H$, con la salvedad de que al menos uno de los R_4 y R_5 es $-SO_3H$.

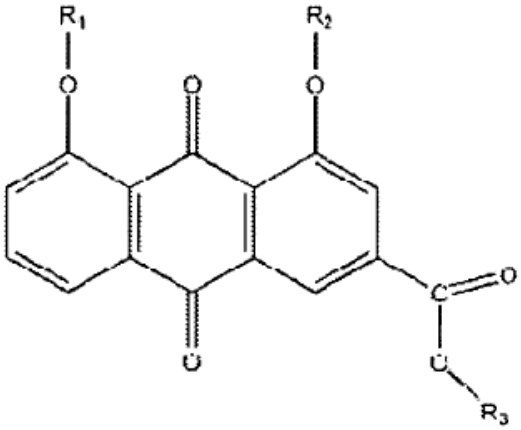
Según una Realización preferente de la presente invención en ella se proporciona un compuesto de la fórmula (III) (6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno acido carboxílico):



(III)

Los compuestos de la presente invención pueden ser en forma de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo compuesto. Se contemplan especialmente sales de sodio, potasio o amonio.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser preparados por un proceso según la presente invención, que incluye el tratamiento de un compuesto de fórmula (II)



en donde R_1, R_2 y R_3 son H, con ácido sulfúrico concentrado, para producir el correspondiente compuesto de fórmula (I), en la forma de ácido sulfónico. En otro paso, un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4} deseado puede ser selectivamente substituido usando técnicas convencionales. Por ejemplo, la reacción con un haluro de acilo C_{2-4}, o el correspondiente anhídrido de acilo, para introducir el grupo C_{2-4} aciloxi deseado, la reacción con un alcohol C_{1-4} para formar el ester correspondiente, o por ejemplo, la reacción con diazometano (CH_2N_2) para introducir el grupo alquilo C_1 o con un haluro de alquilo C_{2-4} para introducir el correspondiente grupo alquilo C_{2-4}. Dependiendo de la sustitución deseada, pueden introducirse grupos conocidos de protección, cuando sea necesario y partidos mediante procesos convencionales.

Alternativamente, el ácido sulfúrico puede reemplazarse con ácido pirosulfúrico.

La reacción con el ácido sulfúrico es realizada preferentemente a una temperatura entre 60 y 120° C, y preferiblemente alrededor de 100 ° C.

El tiempo de reacción con el ácido puede variar, por ejemplo, depende de la temperatura de reacción, del ácido utilizado, del producto deseado (es decir, di- o sustitución de ácido monosulfónico) etc. Como una indicación general, puede considerarse los tiempos de reacción entre 1 hora y 48 horas, por ejemplo, alrededor de 24 horas. El progreso de la reacción puede ser supervisado de forma ventajosa, por ejemplo, mediante HPLC y la reacción se detiene en la terminación de la reacción para el producto deseado, di - o monosulfonato substituido.

El producto puede aislarse en la forma de su sal correspondiente, por ejemplo mediante adición de los correspondientes halogenuros metálicos (por ejemplo, NaCl), o el correspondiente agente alcalinizante metálico (tal como NaOH, KOH o NH_3). Las sales estudiadas incluyen cualquier sal farmacéuticamente aceptable, como, por ejemplo de sodio, potasio o amonio.

El compuesto así obtenido de la fórmula (I) puede ser purificado utilizando cualquier proceso conveniente de purificación convencional, tal como, por ejemplo, HPLC preparativa o partición líquido-líquido.

Los compuestos de la fórmula (I) según la presente invención muestran actividad en la inhibición de las citoquinas pro-inflamatorias de la familia IL-1.

En estudios in vitro en condrocitos humanos, los compuestos de la fórmula (I) han mostrado inesperadamente una inhibición mejorada de interleukina-1 (IL-1β), en comparación con la reína.

Ventajosamente, los compuestos de la fórmula (I) permiten evitar el metabolito aloe-emodina, presente en la diacereína.

En vista de su actividad en la inhibición de citoquinas proinflamatorias de la familia IL-1, los compuestos de la presente invención se contemplan para el tratamiento de trastornos caracterizados por un nivel anormalmente alto o aumentado de IL-1.

Las condiciones que pueden ser tratadas con los compuestos de la invención presente incluyen enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Las condiciones que pueden mencionarse incluyen artritis reumatoide, osteoartritis, osteoporosis, artritis psoriásica, psoriasis, arterioesclerosis, enfermedad de Paget, enfermedad crónica del corazón, enfermedades inflamatorias intestinales incluyendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, endometriosis, granulomatosis de Wegener, disfunciones neurológicas tales como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, mieloma, leucemia mieloide, metástasis ósea, nefrosis diabética, enfisema neumonal, asma.

Por consiguiente, un aspecto de presente la invención se refiere a un método para tratar las condiciones caracterizadas por el aumento de los niveles de IL-1, en comparación con individuos sanos, que comprende la administración a un sujeto un una cantidad eficaz de un compuesto según la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Las condiciones son preferiblemente enfermedades inflamatorias o enfermedades autoinmunes. Especialmente, las condiciones a tratar incluyen las enfermedades inflamatorias de las articulaciones en particular osteoartritis o artritis reumatoide. También pueden ser especialmente mencionadas la artritis psoriásica y la psoriasis.

Es probable que los compuestos de la presente invención sean de utilidad clínica en la amplia gama, anteriormente descrita, de enfermedades inflamatorias o autoinmunes, debido también a sus propiedades físicas mejoradas en comparación con la reína.

Según un aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende la fórmula de un compuesto de la fórmula (I) en combinación con excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas según la presente invención pueden ser para uso humano o veterinario.

Las composiciones farmacéuticas según la invención presente pueden tener una formulación conveniente para su administración por cualquier vía, incluyendo, por ejemplo administración oral, intramuscular, intravenosa, subcutánea, rectal, tópica, transcutánea, intranasal, intra-articular, sublingual e intraperitoneal.

Las formulaciones para administración oral pueden incluir, por ejemplo, tabletas, cápsulas de gelatina dura o blanda, pastillas, suspensiones acuosas u oleicas, polvos dispersables o gránulos para reconstitución, jarabes o emulsiones.

Las formulaciones para la administración parenteral pueden ser en cualquier forma farmacéutica adecuada, tal como en forma de solución tamponada inyectable estéril acuosa o suspensión, como una solución inyectable estéril o en cualquier otro aceptable no tóxico diluyente o disolvente para uso parenteral o en forma liofilizada para la reconstitución en el momento de su utilización.

Las composiciones de la presente invención también pueden proporcionarse en formulaciones para administración tópica, por ejemplo en forma de crema, gel, ungüento o emulsión en un portador acuoso u oleico.

Los compuestos de la fórmula (I) según la presente invención se espera que muestren mejor solubilidad en agua que la reína o la diacereína debido a la presencia del grupo sulfonato. Por ejemplo, los compuestos de la fórmula (I) según la presente invención en donde R_1, R_2, R_3 son H y R_4 y R_5 son independientemente o ambos SO_3H, han demostrado mostrar especialmente buena solubilidad en la solución acuosa. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (III) tiene una solubilidad en el agua de 1,2 mg/ml, mientras que la reína y la diacereína son prácticamente insolubles en agua.

Las propiedades de buena solubilidad de los compuestos de la presente invención permiten que los compuestos sean ventajosamente administrados por las vías parenterales, por ejemplo, mediante inyección o infusión, especialmente como inyección o infusión intra-articular, intramuscular, intravenosa o subcutánea.

Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse según los métodos conocidos en la Técnica, utilizando adecuados excipientes y/o aditivos farmacéuticamente conocidos.

Se contemplan cualesquiera excipientes convencionales farmacéuticamente aceptables convenientes, por ejemplo, diluyentes, aglutinantes, surfactantes, lubricantes, agentes de suspensión, emulsionantes, tampones anti aglomerantes, portadores acuosos u oleicos, agentes desintegrantes, agentes preservantes, agentes aromatizantes, agentes edulcorantes, agentes colorantes, conforme a la vía de administración seleccionada.

Los regímenes convenientes de dosificación variarán dependiendo, entre otras cosas, de factores tales como la aplicación terapéutica, la severidad de la condición y con respecto al paciente a tratar. Las cantidades de dosis diaria típica puede variar en el rango de alrededor de 0,05 mg a alrededor de 150 mg por Kg de peso corporal de paciente por día. En términos generales puede ser contemplada una dosis diaria de alrededor de 10 mg a 500 mg por día, tal como entre unos 10 mg y alrededor de 250 mg por día. La cantidad del principio activo en una dosis unitaria dependerá de los factores mencionados y también de la vía de administración elegida y estará generalmente en el rango de 1 mg a 500 mg de principio activo por forma unitaria de dosificación.

La invención esta aún mejor explicada por los siguientes ejemplos no limitantes.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Preparación de 6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico

La reína (1 g) producida por la desacetilación de diacereína pura, con una pureza de más del 99%, fue disuelta en ácido sulfúrico concentrado (100 ml). La solución se calienta a 100 °C y se agita durante 24 horas. El progreso de la reacción fue seguido en tiempo real usando HPLC hasta la terminación de la reacción. La mezcla de la reacción fue enfriada y vertida en 2 litros de agua con agitación. La solución resultante se almacena durante la noche a 4°C. El material salino de reína no reaccionado fue eliminado mediante centrifugación. El compuesto 6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico precipitó como su sal de sodio mediante la adición de 110 g de cloruro de sodio. La suspensión resultante fue enfriada a 4°C durante una hora, luego se centrifugó para separar el producto sólido y se secó al vacío. Se obtuvieron 2,32 g de producto.

Eliminación de sales:

El producto obtenido anteriormente fue añadido al agua (115 ml) con la mezcla a 4°C durante 30 minutos. La suspensión se centrifugó y decantó entonces para eliminar el sobrenadante con las sales residuales. Esta operación fue repetida siete veces hasta una conductividad constante (alrededor de 330 µS/cm), medida con un medidor de conductividad (Radiómetro CDM206). Luego, el residuo, después del centrifugado, se secó al vacío para obtener 480 mg de producto, con una pureza del 95,6% tal como fue determinado mediante HPLC (cromatografía liquida de alto rendimiento).

Ejemplo 2

Caracterización

Análisis ^{1}H-NMR:
El espectro ^{1}H-NMR (espectroscopia de resonancia magnética nuclear) del producto obtenido en el ejemplo 1 se llevó a cabo en dimetilsulfóxido (DMSO) usando un espectrómetro Broker® a 400 MHz. El espectro obtenido, se muestra en las figuras 1(a) a 1(c), exhibe la concordancia con el producto 6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico.

El espectro ^{1}H-NMR indica la presencia de sólo cuatro protones aromáticos, dos en la posición meta y dos en posiciones orto. Esto muestra que la sustitución del ácido sulfónico ha ocurrido en el anillo que previamente tenía sólo un sustituyente hidroxilo. Los desplazamientos químicos (cambios), en comparación con los desplazamientos químicos calculados sobre la base de aumentos, muestran la sustitución del grupo ácido sulfónico que está en la posición orto.

Análisis MS:
La espectroscopia de masas llevada a cabo en el producto del ejemplo 1 con un espectrómetro Agilent 1100LC-MS, con ionización a presión atmosférica en modo negativo electro-spray. El espectro obtenido, que se muestra en la figura 2, muestra un máximo a 364 y por ello concuerda con el producto 6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico, fórmula (III).

Ejemplo 3

Preparación de sal de sodio de 6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico

La reína (1 g) producida por la desacetilación de diacereína pura, con una pureza de más del 99%, fue disuelta en ácido sulfúrico concentrado (100 ml). La solución se calienta a 100°C y se agita durante 24 horas. El progreso de la reacción fue seguida en tiempo real usando HPLC hasta la terminación de la reacción. Entonces la mezcla de la reacción se enfrió y vertió en 2 litros de agua con agitación. La solución resultante se almacena durante la noche a 4°C. El material salino de reína no reaccionado fue eliminado mediante centrifugación. Se ajustó el pH de los flotantes a 7,0 con NaOH 1 M. El producto 6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico, en la forma de su sal de sodio, fue entonces aislado y purificado de la solución mediante HPLC preparativa utilizando una columna sílicea de fase inversa C18 y eluente metanol/agua/H_3PO_4. Fue aislado y caracterizado 1 g de producto como sal sódica de 6-sulfo-4,5-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antraceno ácido carboxílico mediante NMR y MS como en el ejemplo 2.

Ejemplo 4

Estudios in vitro sobre la inhibición de la IL-1β en condrocitos humanos

Fue estudiada la actividad del compuesto del ejemplo 1 y de la reína en la inhibición del lipopolisacárido (LPS) de la producción estimulada de citoquina IL-1β para condrocitos humanos normal y osteoartríticos (OA).
Materiales y métodos:

Se obtuvo cartílago humano durante la cirugía ortopédica para prótesis total de cadera debida a fractura traumática en sujetos normales o pacientes de OA. Los pacientes con OA fueron seleccionados sobre la base de los siguientes criterios (1) bilaterales OA, (2) diagnósticos de OA moderada (grado I-III, Kellgren-Laurence), apoyados mediante radiología y patología.

Se preparó una suspensión de condrocitos aislados de muestras de cartílago obtenidas de cuatro pacientes de OA y nueve sujetos normales. Las muestras fueron obtenidas y mantenidas bajo condiciones asépticas. El cartílago se cortó en pequeños fragmentos y se incubó con 1 mg/ml de colagenasa clostridial en un tampón carbonato/bicarbonato durante48 horas a 37°C. Una vez separados de la matriz del cartílago, los condrocitos se centrifugaron a 1500 RPM durante cinco minutos. Los condrocitos separados, fueron utilizados para el experimento, suspendidos en un medio de cultivo (DMEM –Medio Eagle modificado por Dulbecco- suplementado con 10% SCF). La viabilidad celular fue evaluada por exclusión mediante azul de tripano.

Se llevó a cabo como sigue la estimulación in vitro de condrocitos con endotoxina bacteriana (LPS) para la producción de IL-1β:

> Se siembran alícuotas de 1 x 106 células/ml en el medio de cultivo en tubos Falcon de 15 ml y son mantenidas bajo agitación en un agitador giratorio (100 RPM).

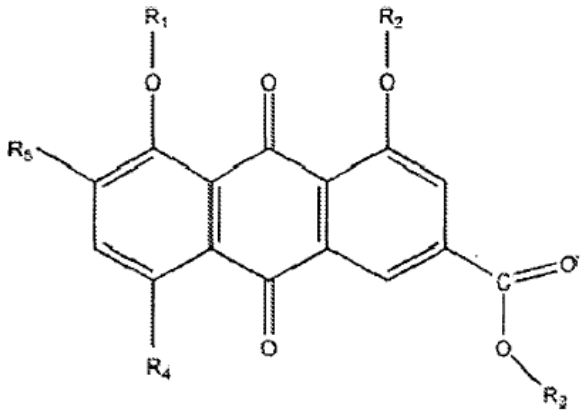
Los condrocitos fueron cultivados durante 48 horas en presencia de MPS (10 µg/ml) con 20 mg/ml de reína o concentraciones en aumento (1, 5, 10, 20 y 30 µg/ml) del compuesto de ensayo (el compuesto del Ejemplo 1). Para las muestras con reína la solución se sometió a cinco minutos de sonicación con el fin de minimizar los problemas de solubilidad relacionadas con la naturaleza hidrofóbica de la reína. Este problema no estuvo presente en las soluciones del compuesto de ensayo debido a su buena solubilidad.

La producción de IL-1β mediante condrocitos se ensayó en el medio de cultivo en las diversas muestras de cultivo mediante un kit ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).

La figura 3 muestra los resultados obtenidos con reína y el compuesto del Ejemplo 1 en la producción de IL-1β en condrocitos normales y OA estimulados con LPS, según lo evaluado por ELISA. La figura 4 muestra la inhibición dosis-dependiente de la producción de IL-1β de condrocitos normales mediante el compuesto de ensayo (el compuesto del Ejemplo 1). Los resultados que se ilustran en la figura 3 muestran como el compuesto de la presente invención exhibe significativamente el aumento de la actividad de inhibición de IL-1β en comparación con la reína. La figura 4 muestra como el compuesto según la invención proporciona una inhibición significativa de la producción de IL-1β, con inhibición máxima entre 10 y 20 mg/ml.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I):

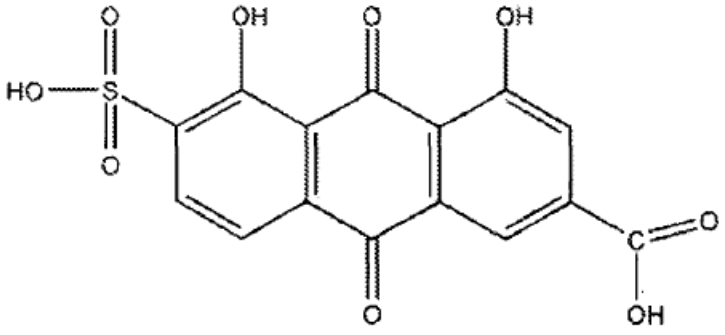


(I)

En donde R_1, R_2, R_3 son cada uno independientemente H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4};
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H o un grupo de fórmula $-SO_3R_6$, en donde R_6 es H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4},
con la salvedad de que al menos uno de los R_4 y R_5 es un grupo de fórmula $-SO_3R_6$, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

2. Un compuesto según la Reivindicación 1, en donde R_1, R_2 son independientemente H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4}, R_3 y R_4 son H y R_5 es - SO_3H.

3. Un compuesto según la Reivindicación 1 ó 2 con la fórmula (III):



(III)

4. Un compuesto según alguna de las Reivindicaciones de 1 a 3 para su utilización como medicamento.

5. Un compuesto según alguna de las Reivindicaciones de 1 a 3 para el tratamiento de una condición que está mediada o influida por citoquinas proinflamatorias de la familia IL-1.

6. Un compuesto según alguna de las Reivindicaciones de 1 a 3 para su utilización como medicamento para el tratamiento de una condición inflamatoria o auto-inmune.

7. Un compuesto según alguna de las Reivindicaciones de 1 a 3 para el tratamiento de una condición seleccionada de artritis reumatoide, osteoartritis, osteoporosis, artritis psoriásica, psoriasis, arterioesclerosis, enfermedad de Paget, enfermedad crónica del corazón, enfermedades inflamatorias intestinales incluyendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, endometriosis, granulomatosis de Wegener, disfunciones neurológicas como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, mieloma, leucemia mieloide, metástasis ósea, nefrosis diabética, enfisema neumonal, asma.

8. Un compuesto según la Reivindicación 7 donde la condición se selecciona de osteoartritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica y psoriasis.

9. Una composición farmacéutica que incluye un compuesto según alguna de las Reivindicaciones de 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.

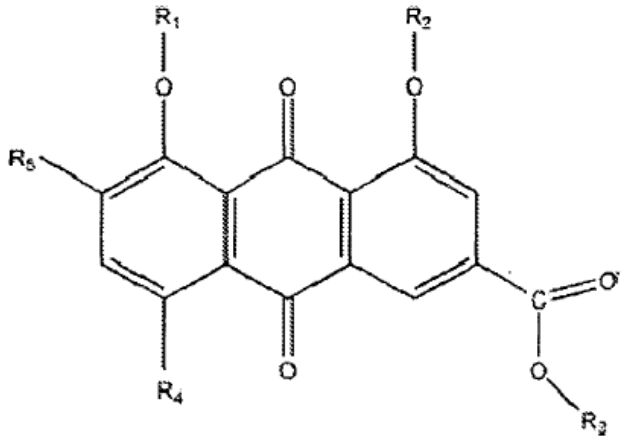
10. Una composición farmacéutica según la Reivindicación 9, en donde la composición es para administración parenteral.

11. Una composición farmacéutica según la Reivindicación 9, en donde la composición es para administración oral.

12. Una composición farmacéutica según la Reivindicación 9, en donde la composición es para administración tópica.

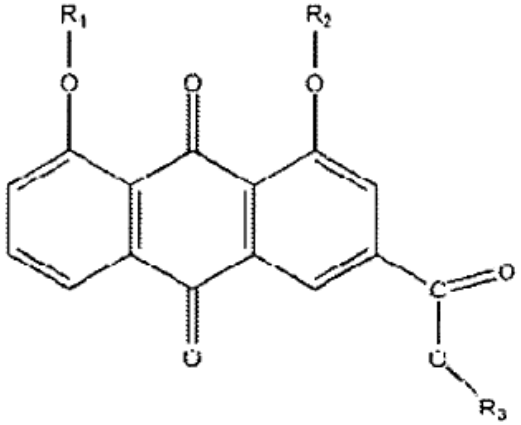
13. La utilización de un compuesto según alguna de las Reivindicaciones de 1 a 3 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de condiciones mediadas o influidas por citoquinas proinflamatorias de la familia IL-1.

14. Un método para la preparación de un compuesto de la fórmula (I):



(I)

En donde R_1, R_2, R_3 son cada uno independientemente H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4};
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H o un grupo de fórmula $-SO_3R_6$, en donde R_6 es H o un grupo alquilo C_{1-4} o un grupo acilo C_{2-4},
con la salvedad de que al menos uno de los R_4 y R_5 es un grupo de fórmula $-SO_3R_6$ o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable,
que incluye tratar el compuesto de la fórmula (II)



en donde R_1, R_2, R_3 son H, con ácido sulfúrico concentrado.

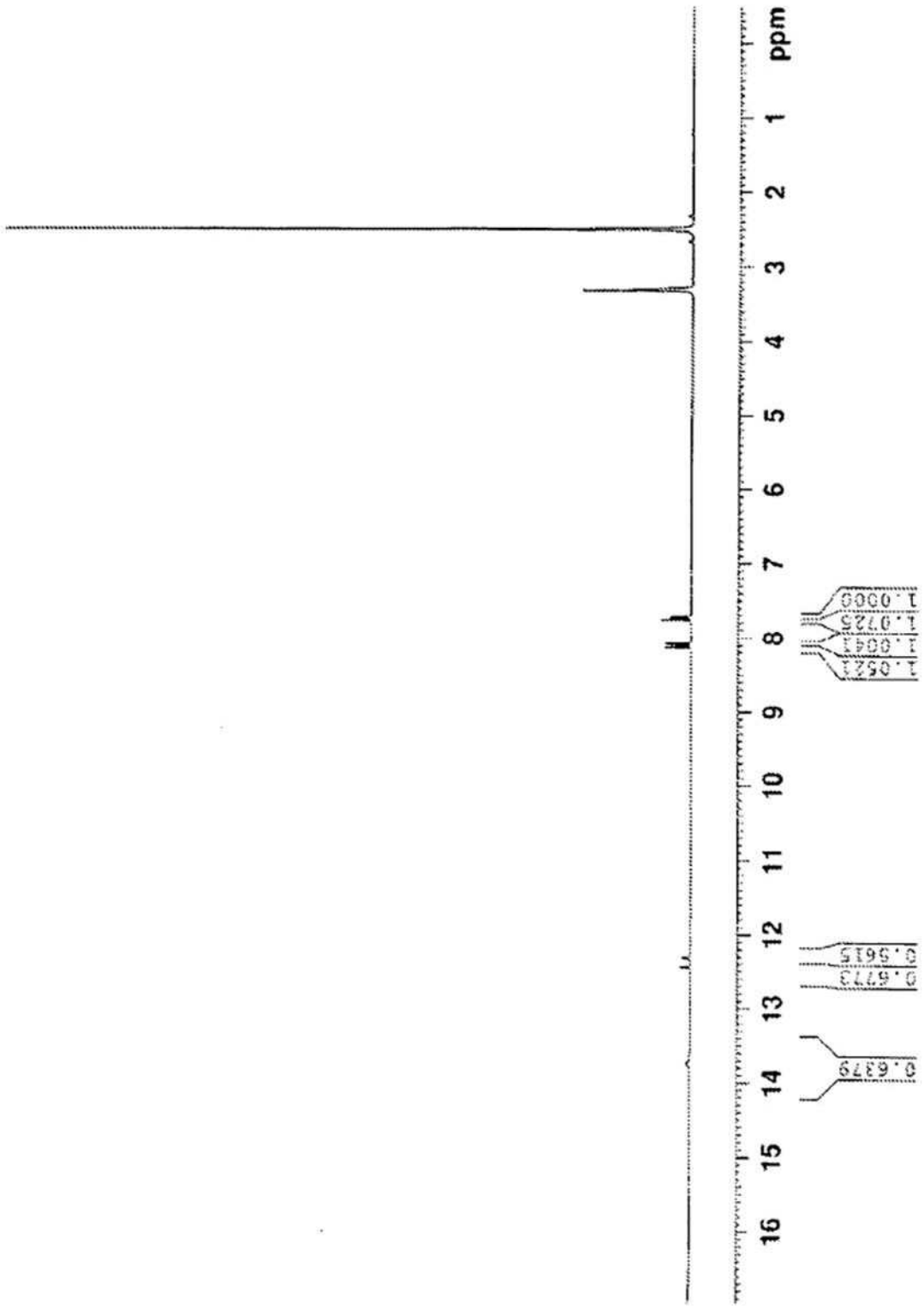

ppm
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
1.0000
1.0725
1.0091
1.0521
0.5615
0.6773
0.6379

Figura 1a

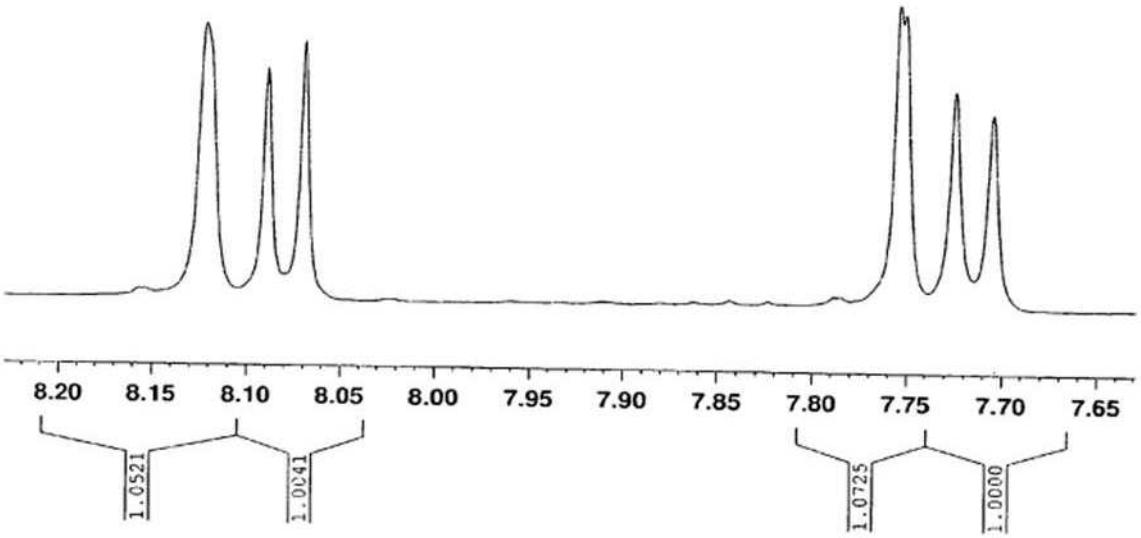


Figura 1b

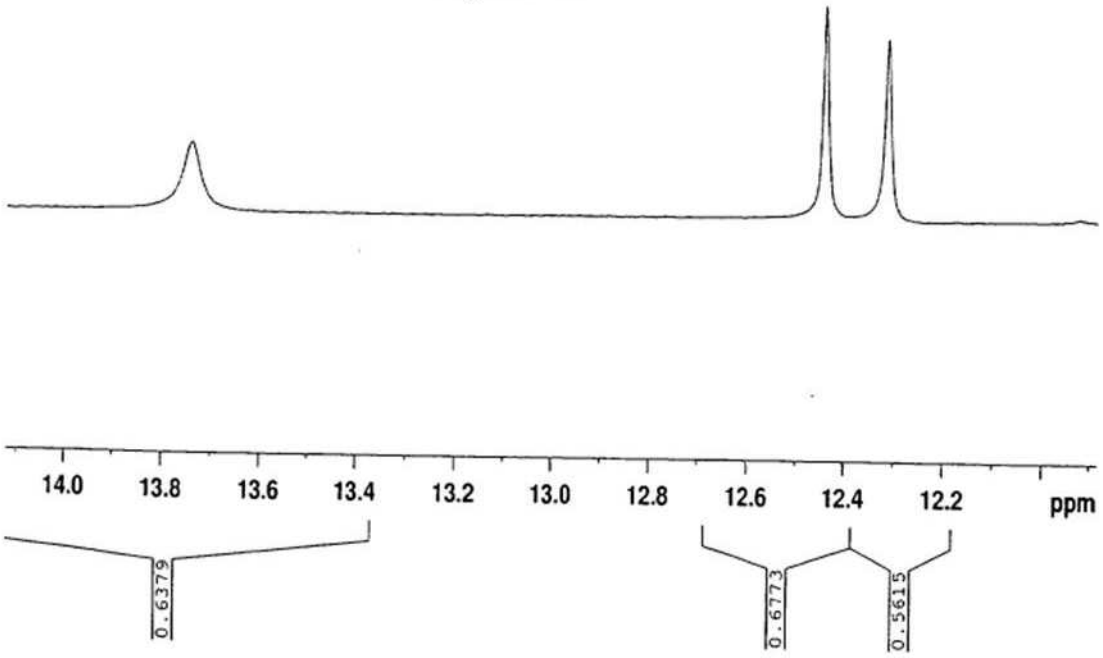


Figura 1c

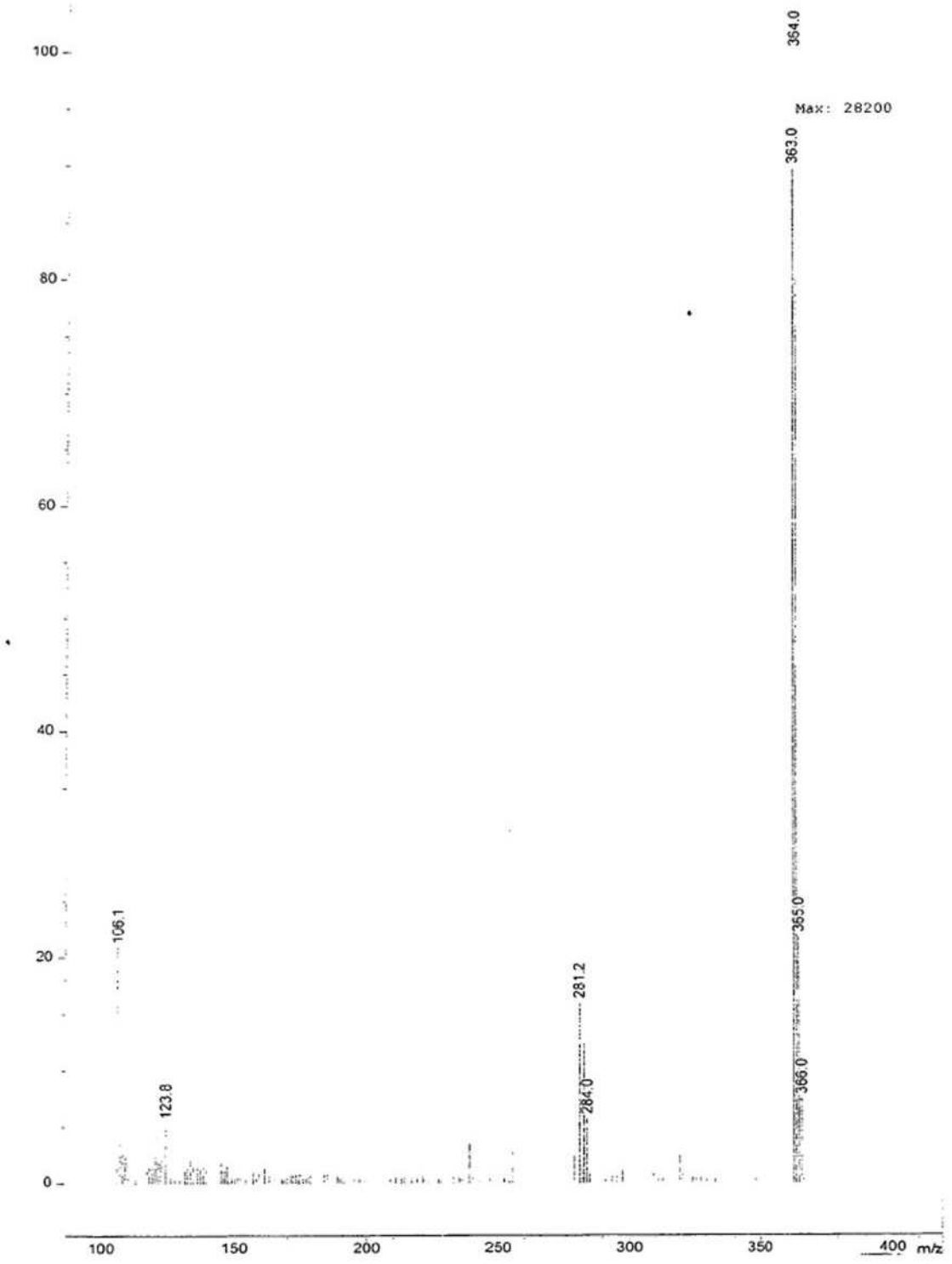

100
80
60
40
20
0
Max: 28200
364.0
363.0
355.0
366.0
281.2
284.0
106.1
123.8
100
150
200
250
300
350
400
m/z

Figura 2

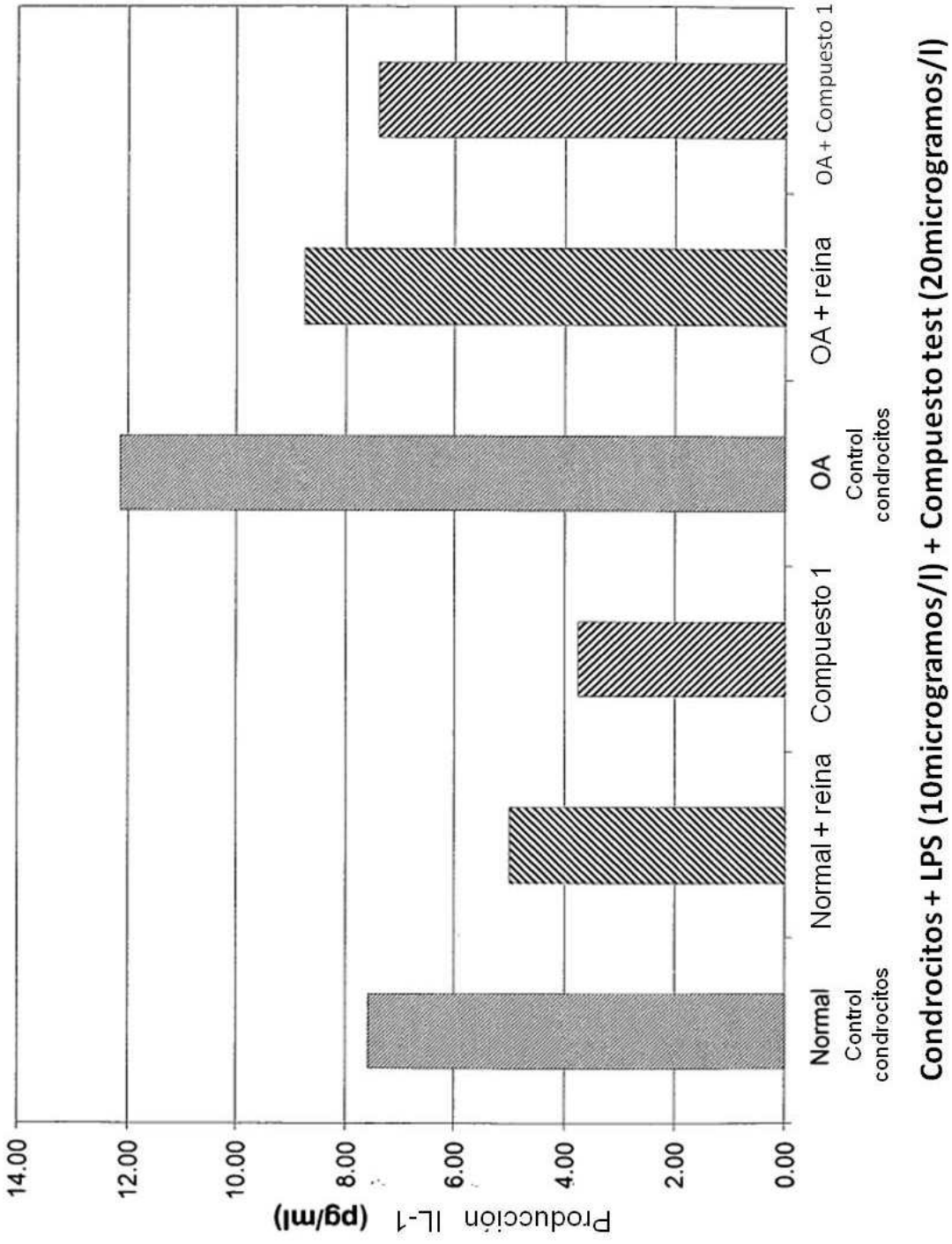

Producción IL-1 (pg/ml)
14.00
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
Normal
Control condrocitos
Normal + reina
Compuesto 1
OA
Control condrocitos
OA + reina
OA + Compuesto 1
Condrocitos + LPS (10microgramos/l) + Compuesto test (20microgramos/l)

Figura 3

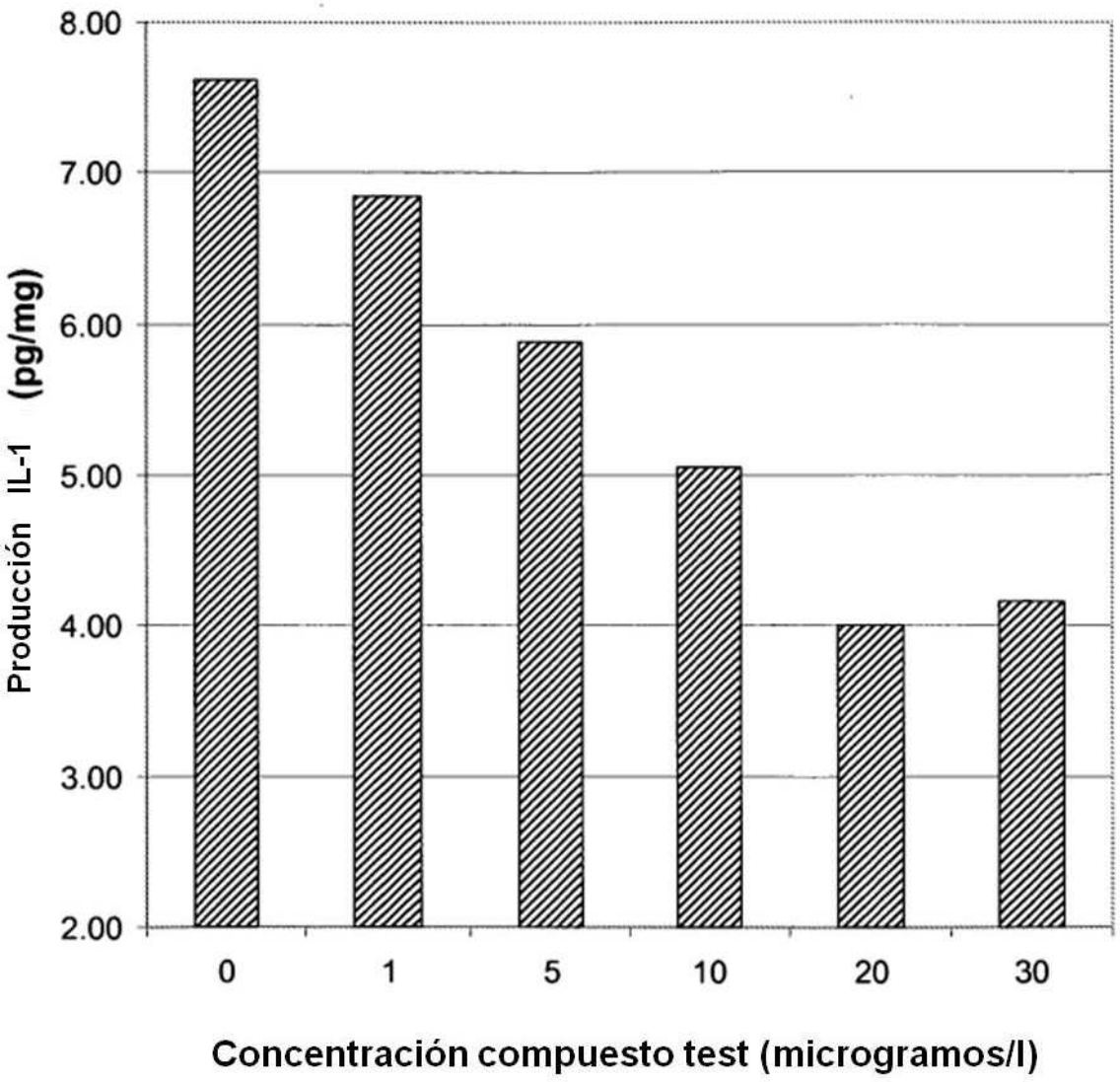

8.00
7.00
6.00
5.00
4.00
3.00
2.00
Producción IL-1 (pg/mg)
0
1
5
10
20
30
Concentración compuesto test (microgramos/l)

Figura 4