

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 775**

51 Int. Cl.:
A61K 31/495 (2006.01)
A61P 7/02 (2006.01)
C07D 241/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **01957581 .0**
96 Fecha de presentación: **02.08.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1311269**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.05.2003**

54 Título: **Procedimiento del uso de dicetopiperazinas y composición que las contiene**

30 Prioridad:
04.08.2000 US 222849 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
31.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
31.05.2012

73 Titular/es:
DMI Biosciences, Inc.
The Quadrant 5445 DTC Parkway, Suite 925
Greenwood Village, CO 80111, US

72 Inventor/es:
BAR-OR, David;
CURTIS, C., Gerald;
RAO, Nagaraja K. R. y
THOMAS, Greg

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 381 775 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

Procedimiento del uso de dicetopiperazinas y composición que las contiene

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a determinadas dicetopiperazinas para su uso en procedimientos para inhibir los efectos del factor de activación plaquetario. La invención también se refiere a determinadas dicetopiperazinas para su uso en procedimientos para inhibir la producción y/o liberación de interleucina 8 (IL-8). Por último, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden las dicetopiperazinas.

Antecedentes

10 El factor de activación plaquetario (FAP; 1-O-alkil-2-acetil-*sn*-glicerol-3-fosforilcolina) es un potente mediador fosfolipídico inflamatorio con una amplia diversidad de actividades biológicas. Se genera y se libera por los basófilos, monocitos, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares, eosinófilos, neutrófilos, linfocitos citotóxicos naturales, plaquetas y células endoteliales, así como por tejidos renales y cardíacos bajo estimulación inmunológica y no inmunológica apropiadas. Véase la solicitud PCT WO 94/04537. El FAP media respuestas biológicas uniéndose a receptores específicos del FAP encontrados en una amplia diversidad de células y tejidos. Estudios de actividad estructural realizados en el FAP y sus análogos indican que la capacidad del FAP para unirse a estos receptores es específica y estereoespecífica de la estructura. Véase el documento PCT WO 94/04537.

15 Aunque FAP media esencialmente respuestas biológicas, parece que también desempeña una función en las respuestas inmunes e inflamatorias patológicas. Muchos estudios publicados han demostrado pruebas acerca de la implicación del FAP en enfermedades, incluyendo artritis, inflamación aguda, asma, reacciones alérgicas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neoplásicas, choque endotóxico, dolor, soriasis, inflamación oftálmica, isquemia, ulceración gastrointestinal, infarto de miocardio, enfermedades intestinales inflamatorias y síndrome de distrés respiratorio agudo. Véase la solicitud PCT WO 94/04537.

20 La implicación del FAP en estados inflamatorios e inmunes patológicos ha estimulado un esfuerzo de investigación sustancial para identificar antagonistas de receptores del FAP y como antagonistas del FAP se han identificado varios compuestos de diversas estructuras químicas. Véanse, por ejemplo, las solicitudes PCT WO 94/04537 y WO 96/00212 (y las referencias citadas en estas dos solicitudes), solicitudes PCT WO 95/18610 y WO 99/49865, Patentes de Estados Unidos N° 4.940.709, 5.358.938, 5.434.151, 5.463.083, 5.648.486, 5.741.809, 5.792.776, 5.780.503, 5.856.323, Solicitud Japonesa 63 290868, Shimazaki y col., Chem. Pharm. Bull., 35(8), 3527-3530 (1987), Shimazaki y col., J. Med. Chem., 30, 1709-1711 (1987), Yoshida y col., Prog. Biochem. Pharmacol., 22, 68-80 (1988), Shimazaki y col., Lipids, 26(12), 1175-1178 (1991). Dado el número significativo de respuestas patológicas inmunes e inflamatorias mediadas por el FAP, sigue existiendo una necesidad de identificar nuevos compuestos y composiciones que inhiban la actividad del FAP.

25 Se han descrito dicetopiperazinas que presentan diversas actividades biológicas. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 4.289.759 (agentes inmunoreguladores), 4.331.595 (agentes inmunoreguladores), 4.940.709 (antagonistas del FAP), 5.700.804 (inhibidores del activador de plasminógeno), 5.750.530 (inhibidores del activador de plasminógeno), 5.990.112 (inhibidores de metaloproteasas), solicitudes PCT WO 97/36888 (inhibidores de la proteína farnesil transferasa) y el documento WO 99/40931 (tratamiento de lesiones del sistema nervioso central), solicitud EP 43219 (agentes inmunoreguladores), solicitud Japonesa 63 290868 (antagonistas del FAP), solicitud Japonesa 31 76478 (agentes inmunosupresores), Shimazaki y col., Chem. Pharm. Bunll., 35(8), 3527-3530 (1987) (antagonistas del FAP), Shimazaki y col., J. Med. Chem., 30, 1709-1711 (1987) (antagonistas del FAP), Shimazaki y col., Lipids, 26(12), 1175-1178 (1991) (antagonistas del FAP), Yoshida y col., Prog. Biochem. Pharmacol., 22, 68-80 (1988) (antagonistas del FAP), Álvarez y col., J. Antibiotics, 47(11), 1195-1201 (1994) (inhibidores de calpaína).

35 Se conoce la dicetopiperazina compuesta por ácido aspártico y alanina (ácido 3-metil-2,5-dicetopiperazín-6-acético; DA-DKP). Se ha descrito que se forma como resultado de la degradación de la albúmina humana almacenada por encima de 30 °C. Chan y col., Eur. J. Biochem., 227, 524-528 (1995). Se sabe que no posee actividad biológica.

El documento FRA-A-2.717.484 desvela pseudo bis-peptidos en formas estereoisoméricas y enantioméricas, incluyendo mezclas, sales, solvatos y sus bioprecusores.

40 El documento US-A-4-3.331.595 desvela compuestos 2,5-dicetopiperazina inmunoreguladores que poseen la capacidad de regular el sistema inmunitario de seres humanos y animales.

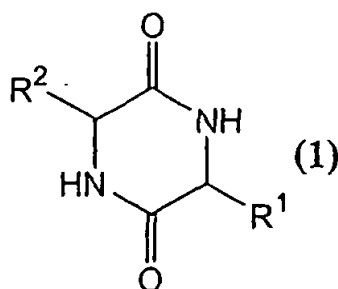
50 Chan B. et. al., Eur J Biochem Vol. 227, (1995), págs. 524-528, desvelan un péptido cíclico formado por degradación N-terminal.

55 Kaakkola S, y col. Brain Research Bulletin Vol. 32 (1993) págs. 667-672 desvelan el efecto de la ciclo(Asp-Phe) citopiperazina sobre niveles extracelulares de dopamina, ácido dihidroxifenilacético, ácido homovanílico y ácido 5-hidroxiindolacético en el striatum usando microdiálisis *in vivo* en ratas anestesiadas.

El documento JP 10-226615 describe composiciones que contienen dipéptidos cíclicos que pueden mejorar la estabilidad de medicinas, cosméticos, productos alimentarios y similares, particularmente su estabilidad a una temperatura próxima a la temperatura corporal mezclando un compuesto específico con estos productos.

Sumario de la invención

- 5 La invención proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad o afección mediada por el factor de activación plaquetario. El procedimiento comprende administrar a un animal que lo necesita una cantidad eficaz de una dicetopiperazina de la fórmula:



en la que:

- 10 R¹ es -CH₂COR³ o -CH₂CH₂COR³;
 R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, lisina, hidroxilisina, histidina, arginina, fenilalanina, tirosina, triptófano, tiroxina, cisteína, metionina, norvalina y ornitina;
 R³ es -OH, -NH₂, -OR⁴, -NHR⁴ o -NR⁴R⁴; y
 15 cada R⁴ es independientemente un alquilo, arilo, alquilarilo o arilalquilo; o una sal de los mismos fisiológicamente aceptable.

La invención proporciona adicionalmente las dicetopiperazinas reivindicadas para su uso en un procedimiento de inhibición que comprende administrar, a un animal que lo necesita, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (1) o una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

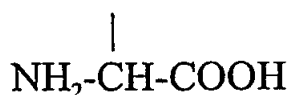
- 20 Además, la invención proporciona las dicetopiperazinas reivindicadas para su uso en un procedimiento para inhibir la producción, liberación o ambas de interleucina 8 por las células, que comprende poner en contacto las células con una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (1) o una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

- La invención proporciona adicionalmente las dicetopiperazinas reivindicadas para su uso en un procedimiento para inhibir los efectos del factor de activación plaquetario (FAP), que comprende poner en contacto el FAP con una
 25 cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (1) o una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

Por último, la invención proporciona una composición farmacéutica. La composición comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula (1) o una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

Descripción detallada de las realizaciones actualmente preferidas

- 30 Por "cadena lateral" de un aminoácido se entiende la parte del aminoácido que está unida a la cadena principal común



de todos de los aminoácidos enumerados anteriormente. Por ejemplo, la cadena lateral de glicina es -H, la cadena lateral de alanina es -CH₃, y la cadena lateral de serina es -CH₂OH.

- 35 Por "alquilo" se entiende un alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1-30 átomos de carbono, preferentemente 1-18 átomos de carbono. "Alquilo inferior" significa un alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1-6 átomos de carbono.

Por "arilo" se entiende un grupo aromático que posee al menos un anillo aromático (por ejemplo, fenilo).

Por "alquilarilo" se entiende a un alquilo inferior que posee un arilo unido al mismo (por ejemplo, -CH₂C₆H₅ o -CH₃CH(C₆H₅)CH₃).

Por "arilalquilo" se entiende a un arilo que posee un alquilo inferior unido al mismo (por ejemplo, $-C_6H_4-CH_3$).

"Inhibir" se usa en el presente documento para referirse a reducir (completa o parcialmente) o prevenir. "Mediar" se usa en el presente documento para referirse a causado por, agravado por o estar implicado.

5 "Tratar" se usa en el presente documento para referirse a reducir (completa o parcialmente) los síntomas de una enfermedad o afección, incluyendo curar la enfermedad o afección, o prevenir la enfermedad o afección.

La presente invención se basa en el descubrimiento de que el ácido 3-metil-2,5-dicetopiperazin-6-acético (DA-DKP) inhibe la actividad del FAP. Esta inhibición parece deberse a la unión del DA-DKP tanto al FAP como a los receptores del FAP. Se cree que la unión del DA-DKP al FAP se debe al emparejamiento iónico del carboxilo del DA-DKP con N^+ en la parte de colina del FAP. Por tanto, podría esperarse que otras dicetopiperazinas que comprendiesen uno o más carboxilos fuesen inhibidores eficaces del FAP. De hecho, es posible que otros compuestos no-dicetopiperazina que comprendan carboxilos, tales como el ácido poli-aspartico o el ácido poli-glutámico, fuesen también inhibidores eficaces del FAP. El mecanismo mediante el cual el DA-DKP se une a receptores del FAP se desconoce, pero se establece la hipótesis de que es debido a la estructura en anillo de la dicetopiperazina del DA-DKP y/o a la cadena lateral R^2 hidrófoba del DA-DKP.

15 En la técnica se conocen procedimientos de preparación de dicetopiperazinas, y posiblemente estos procedimientos pueden emplearse para sintetizar las dicetopiperazinas de fórmula (1). Véase, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 4.694.081 y 5.817.751; Smith y col., Bioorg. Med. Chem. Letters, 8, 2369-2374 (1998). Sin embargo, cuando se usan procedimientos de la técnica anterior para sintetizar dicetopiperazinas de fórmula (1) pueden encontrarse dificultades u obtenerse resultados no satisfactorios (véase la solicitud provisional, en trámite junto con la presente, 60/223.075, presentada el 4 de agosto del 2000). Por consiguiente, es muy preferible que las dicetopiperazinas de fórmula (1) se sinteticen como se describe en la solicitud provisional, en trámite junto con la presente, 60/223.075.

20 La síntesis descrita en la solicitud provisional 60/223.075, utiliza procedimientos sintéticos convencionales de péptidos de fase en solución o de fase sólida bien conocidos en la técnica. Se prefieren los procedimientos sintéticos de péptidos en fase sólida.

La primera etapa de la síntesis descrita en la solicitud provisional 60/223.075 comprende proporcionar un primer aminoácido. El primer aminoácido se selecciona del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, lisina, hidroxilisina, histidina, arginina, fenilalanina, tirosina, triptófano, tiroxina, cisteína, metionina, norvalina y ornitina. Estos aminoácidos, que pueden estar en su forma D- o L-enantiomérica, se encuentran disponibles en el mercado o pueden fabricarse por procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Williams, Synthesis Of Optically Active α -Amino Acids (Pergamon Press, 1989)). Se prefieren los aminoácidos hidrófobos, tales como, glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina. Particularmente se prefiere la alanina.

35 Preferentemente también, para evitar reacciones secundarias no deseadas durante la síntesis, el primer aminoácido se protege con uno o más grupos protectores. Tales grupos protectores y procedimientos para incluirlos y eliminarlos, se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Green y Wuts, Protective Groups In Organic Chemistry (Wiley 1992) y Grant, Synthetic Peptides: A User's Guide (Freeman 1992).

40 El primer aminoácido reacciona con un derivado de ácido aspártico de la siguiente fórmula $NH_2CH(CH_2COOR^5)-COOH$ o un derivado de ácido glutámico de la siguiente fórmula $NH_2CH(CH_2CH_2COOR^5)COOH$, en la que R^5 es un alquilo o un alquilarilo inferior. Preferentemente R^5 es bencilo ($-CH_2C_6H_5$; Bz). Se ha observado que el grupo bencilo no solo protege los carboxilos de la cadena lateral de estos aminoácidos, sino que también facilita la ciclación del dipéptido. Adicionalmente, el bencilo puede eliminarse del péptido en condiciones neutras que evitan la racemización del centro quiral (carbonos que llevan grupos R^1 y R^2).

45 Los derivados de ácido aspártico y glutámico $NH_2CH(CH_2COOR^5)COOH$ y $NH_2CH(CH_2CH_2COOR^5)COOH$ se encuentran disponibles en el mercado o pueden prepararse por procedimientos conocidos (véase, por ejemplo, Bodansky y Bodansky, The Practice of Peptide Synthesis, páginas 63-66 (2ª ed., Springer-Verlag, 1994). Opcionalmente, para evitar reacciones secundarias no deseadas, el grupo amino o un grupo carboxilo de los derivados de ácido aspártico o glutámico puede bloquearse con un grupo protector convencional (véase anteriormente).

50 Como se ha indicado anteriormente, la síntesis de las dicetopiperazinas utilizan preferentemente procedimientos sintéticos de péptidos en fase sólida. El primer aminoácido o el derivado de ácido aspártico o glutámico se une a un soporte sólido a través de su carboxilo para la síntesis en fase sólida. El soporte sólido puede ser cualquier soporte sólido que sea compatible con la síntesis de péptidos, tales como los descritos en Grant y Atherton, Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach (IRL Press 1989). En el mercado se encuentran disponibles soportes sólidos adecuados o pueden prepararse mediante procedimientos convencionales. Véase la solicitud PCT WO 96/00391. El soporte sólido puede contener moléculas engarzadoras o espaciadoras que fijan el primer aminoácido o el derivado de ácido aspártico o glutámico a la superficie del soporte. En la técnica se conocen bien diversos engarces con propiedades diferentes. Véase, por ejemplo, Grant, Synthetic Peptides: A User's Guide (Freeman

1992) y la solicitud PCT WO 96/00391. El engarce incluirá típicamente un grupo funcional al cual se une el primer aminoácido o el derivado de ácido aspártico o glutámico.

Preferentemente, el primer aminoácido se une al soporte sólido y, antes de acoplar el derivado de ácido aspártico o ácido glutámico al primer aminoácido, se elimina el grupo protector, si está presente, sobre el grupo amino del primer aminoácido unido. La eliminación del grupo protector de cualquiera de los grupos amino de la cadena lateral debe evitarse, sin embargo, para desproteger el grupo amino sin desproteger los grupos amino de la cadena lateral, deben seleccionarse condiciones. En la técnica se conocen condiciones de desprotección adecuadas. Por ejemplo, la eliminación de 9-fluoroenilmetiloxycarbonilo puede realizarse con del 20% al 55% de una base amina secundaria, tal como piperidina, en un disolvente aprótico, polar, tal como dimetilformamida, cloruro de metileno o N-metilpirrolidina. Preferentemente, para evitar la transesterificación durante la desprotección, que puede ser pronunciada en preparaciones a gran escala, se añade diisopropil silano.

La reacción entre el primer aminoácido y el derivado de ácido aspártico o glutámico tiene lugar en condiciones eficaces para producir un enlace peptídico de manera que se forme un dipéptido. En la técnica se conocen bien estas condiciones. Por ejemplo, para efectuar la formación del dipéptido, puede usarse un catalizador de acoplamiento (tal como 2-2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,2,3,3-tetrametiluroniotetrafluoroborato, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris(dimetilamino)fosfonio, 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroniohexafluoroborato, 1-hidroxibenzotriazol, diisopropilamina, dicitohexilcarbodiimida). Típicamente, se usa un excedente de catalizador de acoplamiento, con cantidades que varían de 2 a 10 equivalentes o más. A menudo el grado de excedente se termina con respecto a la reactividad de las especies químicas a acoplar. Se prefieren disolventes apróticos, polares (tales como dimetilformamida, N-metilpirrolidina, cloruro de metileno y dimetilsulfóxido). Los tiempos de reacción pueden variar de media hora a un día y las temperaturas pueden variar de temperatura ambiente a temperatura de reflujo.

A continuación, si el dipéptido se une a un soporte sólido, éste se elimina del soporte sólido usando procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica. Las condiciones eficaces para eliminar el dipéptido del soporte sólido dependerán del soporte sólido y del engarce seleccionados. Generalmente, el péptido se eliminará por hidrólisis ácida usando un ácido fuerte, tal como ácido trifluoroacético.

Después, el dipéptido se cicla para formar una dicetopiperazina; aún así, esta dicetopiperazina tendrá el carboxilo de la cadena lateral del derivado de ácido aspártico o glutámico en forma éster. La ciclación se consigue calentando el péptido en condiciones neutras. Típicamente, el dipéptido se calentará a desde aproximadamente 80 °C a aproximadamente 180 °C, preferentemente a aproximadamente 120 °C. El disolvente será un disolvente neutro. Por ejemplo, el disolvente puede comprender un alcohol (tal como butanol, metanol, etanol y alcoholes superiores pero no fenol) y un co-disolvente azeotrópico (tal como tolueno, benceno o xileno). Preferentemente, el alcohol es butan-2-ol y el co-disolvente azeotrópico es tolueno. El calentamiento continúa hasta completar la reacción y tales tiempos pueden determinarse empíricamente. Típicamente, el dipéptido se ciclará calentándolo a reflujo durante aproximadamente 8-24 horas, preferentemente aproximadamente 18 horas.

Finalmente, el grupo R⁵ se elimina de la dicetopiperazina por procedimientos bien conocidos en la técnica para la eliminación de grupos protectores (véase anteriormente). Cuando el grupo R⁵ es bencilo, se prefiere eliminarlo de la dicetopiperazina por hidrogenación usando un catalizador de paladio sobre carbono (Pd/C). Para mantener la quiralidad del compuesto final debe evitarse el uso de ácidos fuertes (ácidos minerales, tales como ácido sulfúrico o clorhídrico), bases fuertes (bases alcalinas, tales como hidróxido de potasio o hidróxido de sodio) y agentes reductores fuertes (por ejemplo, hidruro de aluminio de litio).

Una vez eliminado el grupo R⁵, el ácido libre puede derivatizarse, si se desea, para formar derivados convencionales, tales como amidas y ésteres. En la técnica se conocen bien procedimientos que pueden usarse para convertir el ácido libre en una amida o éster.

En la realización práctica de la presente invención también pueden usarse sales fisiológicamente aceptables de las dicetopiperazinas de fórmula (1). Las sales fisiológicamente aceptables incluyen sales no tóxicas convencionales, tales como sales derivadas de ácidos inorgánicos (tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico y similares), ácidos orgánicos (tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, glutámico, aspártico, benzoico, salicílico, oxálico, ascórbico y similares) o bases (tales como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable o cationes orgánicos derivados de N,N-dibenciletilendiamina, D-glucosamina o etilendiamina). Las sales se preparan de manera convencional, por ejemplo, neutralizando con un ácido la forma de base libre del compuesto.

Para tratar una enfermedad o una afección mediada por el FAP puede usarse una dicetopiperazina de fórmula (1), o una sal de la misma farmacéuticamente aceptable. Para ello, a un mamífero que necesita el tratamiento se le administra una dicetopiperazina de fórmula (1), o una sal de la misma fisiológicamente aceptable. Preferentemente, el animal es un mamífero, tal como un conejo, una cabra, un perro, un gato, un caballo o un ser humano. Las formas de dosificación, modos de administración y cantidades de dosificación eficaces para los diversos compuestos de la invención pueden determinarse empíricamente y el realizar tales determinaciones se encuentra dentro de la experiencia de la técnica. Los expertos en la técnica entienden que la cantidad de la dosificación variará con el compuesto particular empleado, con la enfermedad o afección a tratar, con la gravedad de la enfermedad o afección,

con la vía (o vías) de administración, con la tasa de excreción del compuesto, con la duración del tratamiento, con la identificación de cualquier otro fármaco que se administre al animal, la edad, el tamaño y la especie de animal, y factores similares conocidos en las técnicas médica y veterinaria. En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto la presente invención será la cantidad del compuesto que sea la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Sin embargo, la dosificación diaria la determinará un médico o un veterinario tratante dentro del ámbito del buen criterio médico. Si se desea, la dosis diaria eficaz puede administrarse en forma de dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis, administrarse por separado a intervalos apropiados a lo largo del día. La administración del compuesto debe ser continuada hasta conseguir una respuesta aceptable.

Los compuestos de la presente invención (es decir, dicetopiperazinas de fórmula (1) y sales de la misma fisiológicamente aceptables) pueden administrarse a un paciente animal para la terapia mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo, vía oral, nasal, rectal, vaginal, parenteral (por ejemplo por vía intravenosa, intraespinal, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular), por vía intracisternal, transdérmica, intracraneal, intracerebral y tópica (incluyendo vía bucal y sublingual). Las vías de administración preferidas son la vía oral y la vía intravenosa.

Cuando es posible administrar un compuesto de la presente invención en solitario, es preferible administrar el compuesto como una formulación (composición) farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden un compuesto o compuestos de la invención como un principio activo mezclado con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y, opcionalmente, con uno o más de otros compuestos, fármacos u otros materiales. Cada vehículo debe ser "aceptable" en cuanto a ser compatible con los otros principios de la formulación y no nocivo al animal.

En la técnica se conocen bien vehículos farmacéuticamente aceptables. Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, polvos, gránulos o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o en emulsiones líquidas de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábiga) y similares, conteniendo cada una, como principio activo, una cantidad predeterminada de un compuesto o compuestos de la presente invención. También puede administrarse un compuesto o compuestos de la presente invención como un bolo, electuario o pasta.

Para la administración oral, en las formas de dosificación sólidas de la invención (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el principio activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o diluyentes, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetil celulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato sódico; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín, y arcilla bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. Pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcares lácteos, así como polietilenglicoles de elevado peso molecular y similares.

Un comprimido puede fabricarse comprimiendo o moldeando opcionalmente con uno o más principios accesorios. Los comprimidos fabricados por comprensión pueden prepararse usando aglutinantes (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricantes, diluyentes inertes, conservantes, disgregantes (por ejemplo, glicolato de almidón de sodio o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agentes tensioactivos o dispersantes. Los comprimidos moldeados pueden fabricarse moldeando, en una moldeadora adecuada, una mezcla del compuesto en polvo humedecido con diluyente líquido inerte.

Opcionalmente, los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ranurarse o prepararse con revestimientos y carcasas, tales como con revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar la liberación lenta o controlada del principio activo en su interior usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en diversas proporciones para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Estos pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro retenedor de bacterias. Opcionalmente, estas composiciones también pueden contener agentes opacificantes y pueden ser composiciones que liberen solo el principio activo, o preferentemente, en una determinada parte del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una

manera retardada. Los ejemplos de composiciones incluidas que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada.

5 Las formas de dosificación líquidas para la administración oral de los compuestos de la presente invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del principio activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes normalmente usados en la materia, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceite de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos.

Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, saporíferos, colorantes, perfumantes y conservantes.

15 Las suspensiones, junto con los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

20 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la presente invención para administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, que puede prepararse mezclando uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera o salicilato para supositorios, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en la cavidad rectal o vaginal y liberará el compuesto activo. Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para la administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones para pulverización que contienen vehículos tales como los conocidos por ser apropiados en la materia.

25 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de los compuestos de la presente invención incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches, gotas e inhalantes. El principio activo puede mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier tampón, o propulsor que pueda ser necesario.

30 Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un principio activo, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc o mezclas de los mismos.

35 Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de un principio activo, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida o mezclas de estas sustancias. Los pulverizadores pueden contener adicionalmente propulsores habituales tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

40 Los parches transdérmicos poseen la ventaja añadida de proporcionar al organismo la administración controlada de los compuestos de la presente invención. Tales formas de dosificación pueden fabricarse disolviendo, dispersando o incorporando de otra manera uno o más compuestos de la invención en un medio apropiado, tal como un material de matriz elastomérica. También pueden usarse potenciadores de absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de tal flujo puede controlarse proporcionando una membrana controladora de velocidad o dispersando el compuesto en una matriz o un gel polimérico.

45 Las formulaciones farmacéuticas incluyen las que son adecuadas para la administración por inhalación o insuflación o para la administración nasal o intraocular. Para la administración al tracto respiratorio superior (nasal) o inferior por inhalación, los compuestos de la invención se administran convenientemente a partir de un insuflador, nebulizador o un envase presurizado u otro medio de administración conveniente en un pulverizador de aerosol. Los envases presurizados pueden comprender un propulsor adecuado tal como diclorofluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida.

50 Como alternativa, para la administración por inhalación o insuflación, la composición puede estar en forma de un polvo seco, por ejemplo, un polvo seco de uno o más compuestos de la invención y una base en polvo adecuada, tal como lactosa o almidón. La composición en polvo puede presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en cápsulas o cartuchos o, por ejemplo, en envases de gelatina o blísteres a partir de los cuales puede administrarse el polvo usando un inhalador, un insuflador o un inhalador de dosis medida.

55 Para la administración intranasal, los compuestos de la invención pueden administrarse mediante gotas nasales o un pulverizador líquido, tal como mediante un atomizador en forma de frasco de plástico o un inhalador de dosis medida. Los atomizadores típicos son Mistometer (Wintrop) y Medihaler (Riker).

Las gotas, tales como gotas oculares o gotas nasales, pueden formularse con una base acuosa o no acuosa que también comprenda uno o más agentes dispersantes, agentes solubilizantes o agentes de suspensión. Los pulverizadores líquidos se administran convenientemente a partir de envases presurizados. Las gotas pueden administrarse mediante un frasco con cuentagotas para los ojos o mediante un frasco de plástico adaptado para administrar el contenido líquido por goteo por medio de un cierre especialmente conformado.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas, isotónicas, estériles, farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de usarlos, que pueden contener antioxidantes, tampones, solutos, que hacen a la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, usando materiales de revestimiento, tales como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones o usando tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes de dispersión. También puede ser deseable incluir, en las composiciones, agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede llevarse a cabo incluyendo agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, para prolongar el efecto de un fármaco, es deseable retardar la absorción del fármaco a partir de inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede conseguirse usando una suspensión líquida de un material cristalino o amorfo que posea escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende por tanto de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de un fármaco administrado por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleaginoso.

Las formas en depósito inyectables se fabrican formando matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. La velocidad de liberación del fármaco puede controlarse dependiendo de la proporción del fármaco con respecto al polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También pueden prepararse formulaciones en depósito inyectables incluyendo el fármaco en liposomas o en microemulsiones que sean compatibles con los tejidos corporales. Los materiales inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro retenedor de bacterias.

Las formulaciones pueden presentarse en recipientes monodosis o multidosis sellados, por ejemplo, ampollas y viales y pueden conservarse en un estado liofilizado que sólo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección improvisada pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente.

Como se ha indicado anteriormente, se ha descrito que el FAP desempeña una función en diversas enfermedades y afecciones. Estas enfermedades y afecciones incluyen síndrome de distrés respiratorio agudo, alergias, artritis, asma, enfermedades autoinmunes, bronquitis, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Crohn, fibrosis quística, enfisema, úlcera gastrointestinal, inflamación, enfermedad intestinal inflamatoria, isquemia, síndrome de disfunción orgánica múltiple, infarto de miocardio, enfermedades neoplásicas, inflamación oftálmica, dolor, soriasis, infecciones respiratorias, septicemia, choque y colitis ulcerosa. El FAP también media la agregación plaquetaria. Las dicetopiperazinas de fórmula (1) pueden usarse para tratar cualquiera de estas enfermedades y afecciones y cualquier otra enfermedad y afección en la que el FAP desempeñe una función. Los compuestos de la invención pueden proporcionarse en combinación con otras terapias convencionales para una enfermedad o afección determinada.

Se ha descrito que el FAP induce la producción y secreción de interleucina 8 (IL-8) (véase más adelante el análisis del Ejemplo 3). La IL-8 es una citocina proinflamatoria que se ha descrito que desempeña una función en la patogénesis de una gran cantidad de enfermedades y afecciones, incluyendo síndrome de distrés respiratorio agudo, alergias, artritis, asma, enfermedades autoinmunes, bronquitis, cáncer, enfermedad de Crohn, fibrosis quística, enfisema, endocarditis, gastritis, enfermedad intestinal inflamatoria, reperusión por isquemia, síndrome de disfunción orgánica múltiple, nefritis, pancreatitis, infecciones virales respiratorias, septicemia, choque, colitis ulcerosa y otros trastornos inflamatorios. Se ha observado que las dicetopiperazinas de fórmula (1) inhiben la producción y/o la liberación de IL-8 inducida por el FAP. Datos preliminares indican que también inhiben la producción y/o la liberación de IL-8 en ausencia del FAP. En particular, se ha observado que se inhibe la producción y/o la liberación de IL-8 inducida por (LPS) lipopolisacáridos por células epiteliales bronquiales humanas (datos no

mostró). Por tanto, las dicetopiperazinas de la presente invención parece que actúan mediante dos mecanismos diferentes y pueden usarse para tratar enfermedades o afecciones mediadas por IL-8, así como por FAP.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de ácido 3-metil-2,5-dicetopiperazin-6-acético (5)

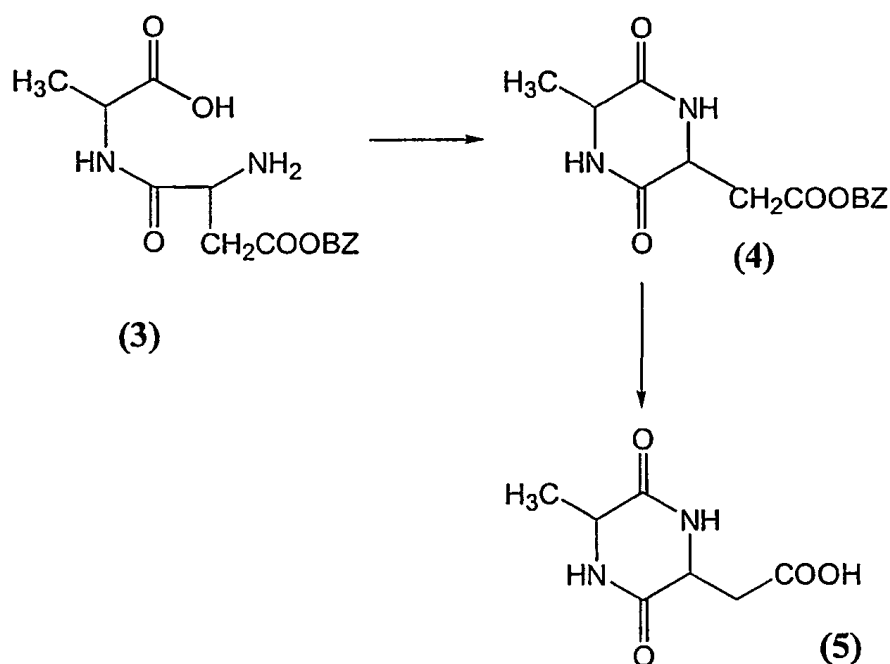
5 Se transfirió una resina de Wang que poseía alanina protegida con 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Ala-Fmoc) unida a la misma (3 gramos (g), 2,52 mmol, 1 equivalente, NovaBiochem) a un matraz de 100 ml, de fondo redondo transparente y a la resina en el matraz se le añadió una solución de piperidina (12 ml) en dimetilformamida (DMF; 18 ml). La solución se removió durante 1 hora y la resina se aisló en un embudo de vidrio sinterizado. La resina se lavó con DMF (3 x 30 ml) y después con diclorometano (DCM; 3 x 30 ml) y se dejó secar al vacío durante 5 minutos.

10 La resina parcialmente seca se transfirió a un matraz de 100 ml, de fondo redondo transparente y se añadió DMF (10 ml). Después, se añadió Boc-Asp(OBz)OH (3,25 g, 10,07 mmol, 4 equivalentes), seguido de diisopropilamina (2,83 ml, 2,04 g, 20,19 mmol, 8 equivalentes) y 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,2,3,3-tetrametiluroniotetrafluoroborato (TBTU; 3,24 g, 10,09 mmol, 4 equivalentes, Acros). La suspensión se dejó reaccionar en condiciones anaerobias durante 12 horas. Al final del este tiempo, la resina mostró un ensayo negativo a ninhidrina, indicador de la finalización de la reacción de acoplamiento. La resina se filtró al vacío y se lavó con DMF (3 x 30 ml) seguido de DCM (3 x 30 ml). La resina se dejó secar a temperatura ambiente al vacío durante 10 minutos antes de transferirla a un matraz de 100 ml de fondo redondo transparente.

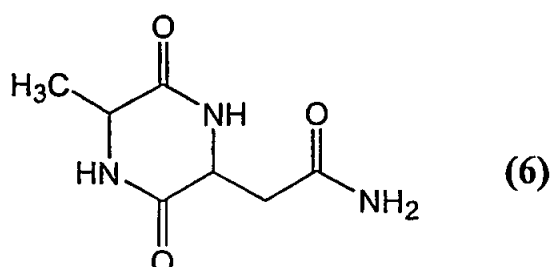
20 A la resina seca se le añadió ácido trifluoroacético (TFA; 16,5 ml) y, después de esta adición, la resina se volvió de color rojo. Después de remover la resina durante 30 minutos más, el TFA se eliminó por filtración y la resina se lavó con DCM (4 x 20 ml). Los componentes orgánicos se agruparon y se añadió tolueno (20 ml). Los materiales orgánicos combinados se evaporaron hasta secarse al vacío. Se eliminaron las trazas de TFA añadiendo tolueno y evaporando. El proceso se repitió hasta eliminar todo el TFA. Este procedimiento dio como resultado un producto oleaginoso de color amarillo pálido cuyos datos de RMN y de espectrofotometría de masa coincidían con el éster bencílico dipeptídico esperado cuya estructura (**3**) se muestra más adelante.

25 El dipéptido **3** se disolvió en butan-2-ol (40 ml) y se diluyó con tolueno (60 ml). Esta solución se dejó a reflujo durante 24 horas. Al final de este periodo, la solución se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Después se concentró en un evaporador rotativo manteniendo al mismo tiempo la temperatura a 50 °C. Después de la concentración, un sólido blanco precipitado y el precipitado se eliminaron por filtración. El precipitado se lavó con tolueno (10 ml) y se secó. El resto (0,650 g) dio un ensayo negativo a ninhidrina. Después, este se cristalizó a partir de metanol caliente. Los resultados espectroscópicos y analíticos para el producto cristalizado confirmaron que su estructura era el compuesto éster bencílico Asp-Ala dicetopiperazina mostrado más adelante (**4**).

35 Este compuesto (400 mg) se disolvió en metanol (250 ml), y se añadió cuidadosamente catalizador de paladio sobre carbono (Pd/C; al 10%, 0,4 g). El matraz se purgó con hidrógeno y se mantuvo a una presión positiva con hidrógeno. La solución se mantuvo en esta atmósfera durante al menos 4 horas. El catalizador se eliminó por filtrado (celita) y se lavó con metanol. Los lavados con metanol se combinaron, y el disolvente se eliminó (rendimiento 200 mg). Los análisis de RMN y de espectrofotometría de masa mostraron que se había formado el ácido libre Asp-Ala dicetopiperazina (ácido 3-metil-2,5- dicetopiperazin-6-acético, **5**) sin ninguna contaminación cruzada.



Ejemplo 2: Preparación de Asp-Ala dicetopiperazin Amida (6)



5 A una solución de ácido 3-metil-2,5-diketopiperazin-6-acético, (0,151 g, 0,81 mmol, 1 equivalente, preparación descrita en el Ejemplo 1, 5) en DMF (2,5 ml) se le añadió carbonil diimidazol (0,26 g, 1,60 mmol, 2 equivalentes, Aldrich). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió acetato de amonio sólido (0,63 g, 8,17 mmol, 10 equivalentes, Aldrich). La agitación continuó a temperatura ambiente durante una noche, tiempo en el cual la reacción se dividió entre agua (20 ml) y acetato de etilo (10 ml). La capa acuosa se lavó con una segunda alícuota de acetato de etilo (10 ml) y después se evaporó hasta secarse a presión reducida (61 °C). Las trazas de DMF se eliminaron por co-evaporaciones adicionales con agua y después tolueno para dar un sólido blanco (362 mg). Éste se recogió en un volumen mínimo de metanol en DCM (20:80 v/v). El disolvente eluido se fraccionó y las fracciones apropiadas se agruparon y se evaporaron a presión reducida (40 °C) para dar un sólido blanco. Después el producto se recristalizó a partir de metanol para dar el producto deseado (0,116 g, rendimiento 76%, 6).

Ejemplo 3: Inhibición de la liberación de IL-8

15 La interleucina 8 (IL-8) es una citocina proinflamatoria y un fuerte quimioatrayente y activador de neutrófilos. También se ha descrito que es un quimioatrayente y un activador de linfocitos T y eosinófilos. Las células inmunes (incluyendo linfocitos, neutrófilos, monocitos y macrófagos), fibroblastos y células epiteliales producen la IL-8. Publicaciones realizadas indican una importante función de la IL-8 en la patogénesis de infecciones virales respiratorias, asma, bronquitis, enfisema, fibrosis quística, síndrome de distrés respiratorio agudo, septicemia, 20 síndrome de disfunción orgánica múltiple y otros trastornos inflamatorios.

Se ha descrito que el FAP induce la transcripción y secreción de IL-8 en fibroblastos de pulmón humano. Roth y col., J. Exp. Med., 184, 191-201 (1996). También se ha descrito que el FAP potencia la producción de IL-8 por células mononucleares humanas en respuesta a lipopolisacáridos (LSP), pero que el FAP en solitario solo induce débilmente la producción de IL-8 por estas células. Arbabi y col., Archives Surgery, 134, 1348-1353 (1999). Estos autores han creado la hipótesis de que el FAP "ceba" el sistema inmunitario innato para producir grandes cantidades de mediadores proinflamatorios en respuesta a un segundo estímulo inflamatorio que de otra manera habría sido insuficiente para desencadenar una respuesta inflamatoria. Además suponen que si este cebamiento es generalizado, puede llegar a ser perjudicial. En tal caso, el segundo estímulo, que se consideraría menor por el sistema inmunitario innato no cebado, induciría una liberación agresiva, difusa y no focalizada de mediadores

inflamatorios, conduciendo posiblemente al síndrome de disfunción orgánica múltiple.

5 Se añadieron células epiteliales bronquiales humanas normales EBHN 6122 (Clonetics, San Diego, CA) a una placa de cultivo tisular de 24 pocillos (Falcon, ahora BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) a 20.000 células/pocillo y se dejaron adherirse durante una noche (16-18 horas) en MCEB (medio de crecimiento epitelial bronquial; Clonetics) que contenía epinefrina (medio completo) a 37 °C y CO₂ al 5%. Después de la adhesión, las células se lavaron dos veces con MCEB sin epinefrina. Después se incubaron en medio completo o en medio incompleto que contenía ácido 3-metil-2,5-dicetopiperazin-6-acético (DA-DKP; preparación descrita en el Ejemplo 1, 5; solución madre preparada en solución salina tamponada con HEPES (HBSS; Clonetics) 20 μm a 4 mM durante 20 minutos a 37 °C y CO₂ al 5%. El factor de activación plaquetario (FAP; Sigma, St. Louis, MO) disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO; calidad de cultivo tisular; Sigma, St. Louis, MO) se añadió después a una concentración final de 100 nM o 500 nM y las células se incubaron durante 6 horas más a 37 °C y CO₂ al 5%. Como control se usó medio que contenía DMSO y HBSS.

15 La concentración de IL-8 en el sobrenadante celular se determinó mediante un ELISA usando pares de anticuerpos humanos emparejados con IL-8 (Endogen, Cambridge, MA). El ELISA se realizó usando un kit de ELISA de Endogen, Cambridge, MA de acuerdo con las instrucciones del fabricante con las siguientes excepciones: (1) anticuerpo de revestimiento a 1 μg/ml; (2) anticuerpo de detección 30 ng/ml; Estreptavidina HRP diluida 1:32.000.

Los resultados se presentan en las siguientes Tablas 1-3. Como puede observarse, la secreción de IL-8 inducida por FAP en células EBHN 6122 se inhibió por la pre-incubación de las células con DA-DKP. Se crea la hipótesis de que el DA-DKP se une al FAP, al receptor del FAP o a ambos, bloqueando la señal para producir (liberar) IL-8.

20

TABLA 1

	IL-8 (pg/ml)	DTM
DMSO	729,88	8,46
HBSS	809,62	198,23
DA-DKP (20 μM)	803,11	67,18
FAP (100 nM)	1094,68	103,21
FAP + DA-DKP	714,91	88,95

TABLA 2

	IL-8 (pg/ml)	DTM
DMSO	602,99	73,48
HBSS	581,86	64,36
DA-DKP (20 μM)	837,84	100,73
FAP (100 nM)	887,87	112,56
FAP + DA-DKP	542,5	37,17

TABLA 3*

	IL-8 (pg/ml)	DTM
DMSO	209,79	13,24
HBSS	233,08	5,79
DA-DKP (20 μ M)	184,86	34,73
FAP (100 nM)	355,36	11,28
FAP + DA-DKP	201,93	20,64

*Para la Tabla 3, las células se dividieron

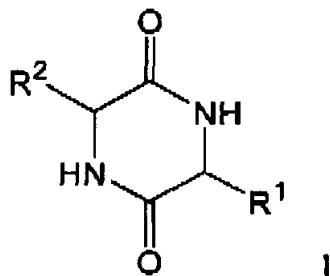
para dar 5.000 células/pocillo cuatro días

antes del experimento y se dejaron

crecer hasta alcanzar una confluencia del 70%

REIVINDICACIONES

1. Un principio activo para su uso en el tratamiento de inflamación inhibiendo la inflamación, en el que el principio activo tiene la siguiente fórmula:



5 en la que:

R^1 es $-\text{CH}_2\text{COR}^3$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COR}^3$;

R^2 es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, hidroxilisina, histidina, arginina, fenilalanina, tirosina, tiroxina y norvalina;

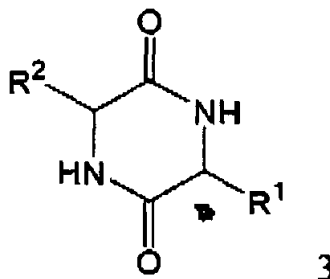
10 R^3 es $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OR}^4$, $-\text{NHR}^4$ o $-\text{NR}^4\text{R}^4$; y

cada R^4 es independientemente un alquilo, arilo, alquilarilo o arilalquilo; o

una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

2. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el uso es para el tratamiento de una enfermedad o afección inflamatoria.

15 3. Un principio activo para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune, en el que el principio activo tiene la siguiente fórmula:



en la que:

R^1 es $-\text{CH}_2\text{COR}^3$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COR}^3$;

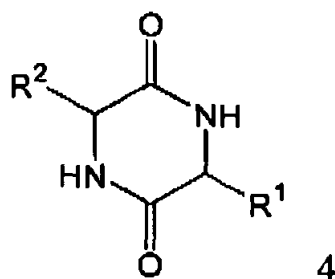
20 R^2 es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, hidroxilisina, histidina, arginina, fenilalanina, tirosina, tiroxina y norvalina;

R^3 es $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OR}^4$, $-\text{NHR}^4$ o $-\text{NR}^4\text{R}^4$; y

cada R^4 es independientemente un alquilo, arilo, alquilarilo o arilalquilo; o

25 una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

4. Un principio activo para su uso en el tratamiento de una enfermedad neoplásica, en el que el principio activo tiene la siguiente fórmula:



en la que:

R¹ es -CH₂COR³ o -CH₂CH₂COR³;

5 R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, hidroxilisina, histidina, arginina, fenilalanina, tirosina, tiroxina y norvalina;

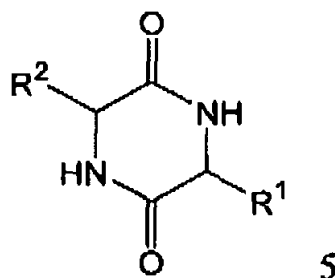
R³ es -OH, -NH₂, -OR⁴, -NHR⁴ o -NR⁴R⁴; y

cada R⁴ es independientemente un alquilo, arilo, alquilarilo o arilalquilo; o

una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

10 5. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la enfermedad neoplásica es un cáncer.

6. Un principio activo para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección respiratoria seleccionada de síndrome de distrés respiratorio agudo, asma, bronquitis, enfisema o una infección respiratoria, en el que el principio activo tiene la siguiente fórmula:



15

en la que:

R¹ es -CH₂COR³ o -CH₂CH₂COR³;

20 R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, hidroxilisina, histidina, arginina, cisteína, metionina, fenilalanina, tirosina, tiroxina y norvalina;

R³ es -OH, -NH₂, -OR⁴, -NHR⁴ o -NR⁴R⁴; y

cada R⁴ es independientemente un alquilo, arilo, alquilarilo o arilalquilo; o

una sal del mismo fisiológicamente aceptable.

25 7. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tratamiento de inflamación incluye el tratamiento de alergia, artritis, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Crohn, fibrosis quística, endocarditis, gastritis, ulceración gastrointestinal, enfermedad intestinal inflamatoria, isquemia, reperfusión por isquemia, síndrome de disfunción orgánica múltiple, infarto de miocardio, nefritis, pancreatitis, septicemia o colitis ulcerosa.

30 8. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el tratamiento de una enfermedad autoinmune incluye el tratamiento de artritis, enfermedad de Crohn, pancreatitis, soriasis o colitis ulcerosa.

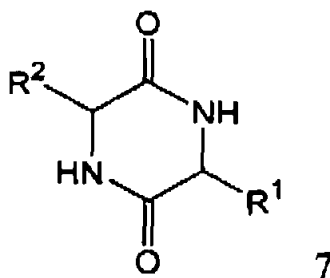
9. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el tratamiento es para la enfermedad de Crohn, gastritis, ulceración gastrointestinal, nefritis, pancreatitis o colitis ulcerosa.

10. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el tratamiento es para la artritis.

11. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el tratamiento es para la soriasis.

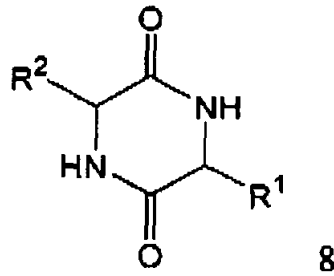
35

12. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el tratamiento es para enfermedades cardiovasculares, isquemia o reperfusión por isquemia o síndrome de disfunción orgánica múltiple o septicemia.
13. El principio activo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, arginina, tirosina, tiroxina y norvalina.
- 5 14. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, tirosina y norvalina.
- 10 15. El principio activo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que R³ es –OH o –OR⁴.
16. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que R³ es –OH.
17. El principio activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en el que R¹ es –CH₂COOH.
18. El principio activo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que R² es la cadena lateral de alanina.
- 15 19. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un principio activo que tiene la fórmula:



en la que:

- 20 R¹ es –CH₂COR³ o –CH₂CH₂COR³;
 R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, hidroxilisina, histidina, tirosina, tiroxina y norvalina;
 R³ es –OH, –NH₂, –OR⁴, –NHR⁴ o –NR⁴R⁴; y
 cada R⁴ es independientemente un alquilo, arilo, alquilarilo o arilalquilo; o
- 25 una sal del mismo fisiológicamente aceptable.
20. Composición de acuerdo con la reivindicación 19, en la que R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, tirosina y norvalina.
21. Composición de acuerdo con la reivindicación 19 ó 20, en la que R³ es –OH o –OR⁴.
- 30 22. Composición de acuerdo con la reivindicación 21, en la que R³ es –OR⁴ y R⁴ es un grupo alquilo C₁ a C₆ de cadena lineal o ramificada.
23. Composición de acuerdo con la reivindicación 21, en la que R¹ es –CH₂COOH.
24. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23, en la que R² es la cadena lateral de alanina.
- 35 25. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un principio activo que tiene la fórmula:



en la que:

- 5 R¹ es -CH₂COR³ o -CH₂CH₂COR³;
 R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, lisina, hidroxilisina, histidina, tirosina, tiroxina, norvalina y ornitina;
 R³ es -OH o -OR⁴; y
 cada R⁴ es independientemente un alquilo, arilo, alquilarilo o arilalquilo; o
 una sal del mismo fisiológicamente aceptable.
- 10 26. Composición de acuerdo con la reivindicación 25, en la que R² es la cadena lateral de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, tirosina y norvalina.
27. Composición de acuerdo con la reivindicación 25 ó 26, en la que R³ es -OH.
28. Composición de acuerdo con la reivindicación 27, en la que R¹ es -CH₂COOH.
- 15 29. Composición de acuerdo con la reivindicación 25 ó 26, en la que R³ es -OR⁴ y R⁴ es un grupo alquilo C₁ a C₆ de cadena lineal o ramificada.
30. Composición de acuerdo con la reivindicación 29, en la que R⁴ es metilo.
31. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 25 a 30, en la que R² es la cadena lateral de alanina.
- 20 32. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 31, en la que la composición se formula para administración oral.
33. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 31, en la que la composición se formula para administración tópica.