

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 721**

51 Int. Cl.:
A61K 31/4425 (2006.01)
C07D 213/20 (2006.01)
C07D 213/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04756271 .5**
96 Fecha de presentación: **28.06.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1638505**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.03.2006**

54 Título: **Compuestos de piridinio anfililos , método de fabricación y utilización de los mismos**

30 Prioridad:
27.06.2003 US 482764 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.08.2012

73 Titular/es:
**THE HENRY M. JACKSON FOUNDATION FOR
THE ADVANCEMENT OF MILITARY MEDICINE,
INC.
6720-A Rockledge Drive, Suite 100
Bethesda, MD 2081, US y
SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH
AND HUMAN SERVICES**

72 Inventor/es:
**POLLARD, Harvey y
JACOBSON, Kenneth**

74 Agente/Representante:
Durán Moya, Carlos

ES 2 386 721 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

Compuestos de piridinio anfillos, método de fabricación y utilización de los mismos

5 **SECTOR DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a compuestos, un método de fabricación y un método de utilización de dichos compuestos para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con interleuquina-8, tales como fibrosis quística.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

15 La interleuquina-8 (IL-8) es una citoquina que activa y atrae neutrófilos y atrae linfocitos T. La IL-8 es liberada por varios tipos celulares incluyendo monocitos, macrófagos, linfocitos T, fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos mediante un estímulo inflamatorio. La IL-8 es un miembro de la superfamilia de beta-tromboglobulina y está estructuralmente relacionada con el factor plaquetario 4.

20 La IL-8 es una proteína no glucosilada de 8 kDa (72 aminoácidos) y se produce mediante el procesamiento de una proteína precursora de 99 aminoácidos. La proteína IL-8 contiene cuatro residuos de cisteína que participan en puentes disulfuro. El gen de IL-8 humana (SCYB8) tiene una longitud de 5,1 kb, contiene cuatro exones y mapas para el cromosoma humano 4q12-q21. El ARNm está compuesto por una región no traducida 5' de 101 bases, un marco abierto de lectura de 297 bases, y una larga región 3' no traducida de 1,2 kb. La región flanqueante 5' del gen de IL-8 contiene una serie de elementos que actúan en posición cis que son potenciales sitios de unión para factores nucleares. Algunos de los elementos que actúan en posición cis son sensibles a reguladores intrínsecos tales como NFκB y AP-1, mientras que otros son específicos de patógenos. Las identidades de los elementos que actúan en posición cis se resumen de la siguiente manera: (i) el RSVRE, (sitio de unión -162 a -132) es el recién descubierto Elemento Sensible al Virus Respiratorio Sincitial, que es responsable de la inflamación pulmonar intensa dependiente de IL-8 en infección por VRS [Casola y otros, J. Immunol., 164: 5944-5951, (2000)]. (ii) IFNRF1, el factor de regulación de interferón 1, se une a RSVRE y activa además el mismo. [Casola y otros, *supra*]. (iii) AP-1, (sitio de unión: -126 a -120), es activado por el heterodímero de JunD/cFos, y es superactivado en infección por citomegalovirus (CMV) por el (iv) CMVRE1 (elemento sensible a CMV). (v) NF-IL6 (sitio de unión: -94 a -81) es activador de la transcripción de IL-8 y es un posible sitio de solapamiento de interacción con C/EBPa (proteína a de unión a la secuencia potenciadora CCAAT). (vi) NFκB (sitio de unión: -80 a -70) es activado por la familia de los factores de transcripción NF B/Rel, y superactivado por CMV1E1. (vii) C/EBPa (sitio de unión: -91 a -81) se solapa parcialmente con el sitio de NFκB, y activa o inhibe la transcripción de IL-8, dependiendo del contexto [Victor y otros, J. Trauma, 39: 635-640, (1996); Stein y otros, Mol. Cell. Biol., 13: 7191-7198, (1993)]. (viii) GC (receptor de glucocorticoides) se une a NFκB e inhibe la transcripción [Baldwin, Annu. Rev. Immunol., 14: 649-681, (1996)]. (ix) OCT-1 es un factor de homeodominio que suprime la transcripción de IL-8 actuando sobre NF-IL6 [Wu y otros, J. Biol. Chem., 272: 2396-2403, (1997)]. (x) NF-AT (Factor Nuclear de células T Activadas) se une en el sitio de NFκB o cerca del mismo y activa la transcripción [Roebuck, J. Interferon Cytokine Res., 19: 429-438, (1999)]. (xi) TAX, codificado por el virus VLTH-1, se une a NFκB y promueve la transcripción [Suzuki y otros, Oncogene, 9: 3099-3105, (1994)]. (xii) NRF (sitio de unión: solapamiento parcial con NFκB) es el Factor de Represión de NFκB que es principalmente responsable de la silenciamiento basal, pero también es necesario para la producción completa de ARNm de IL-8 [Nourbakhsh y otros, J. Biol. Chem., 44: 4501-4508, (2000)]. (xiii) secuencia TATA (sitio de unión: -20 a -13) se une a TF-III y a TBP, y es absolutamente necesaria para la transcripción de IL-8.

45 La IL-8 difiere de todas las demás citoquinas en su capacidad para activar específicamente granulocitos neutrófilos. En los neutrófilos, IL-8 causa un aumento transitorio de los niveles de calcio citosólico y la liberación de enzima a partir de gránulos. La IL-8 también mejora el metabolismo de especies de oxígeno reactivas y aumenta la quimiotaxis y la expresión mejorada de moléculas de adhesión. Se requiere una pre-activación mediante IL3 para hacer a los basófilos y neutrófilos susceptibles a activación adicional por IL-8, y la IL-8 sola no libera histaminas. La IL-8 realmente inhibe la liberación de histamina de basófilos humanos inducida por factores de liberación de histamina, CTAP-3 (proteína activadora de tejido conectivo-3) e IL3.

50 La IL-8 es quimiotáctica para todos los tipos conocidos de células inmunitarias migratorias e inhibe la adhesión de leucocitos a células endoteliales activadas y, por lo tanto, posee actividades antiinflamatorias. La IL-8 es un mitógeno para células epidérmicas y se une fuertemente a eritrocitos *in vivo*. Esta absorción puede ser de importancia fisiológica en la regulación de reacciones inflamatorias, dado que IL-8 unida a eritrocitos ya no activa los neutrófilos. La IL-8 obtenida de macrófagos apoya la angiogénesis y puede desempeñar un papel en trastornos dependientes de angiogénesis tales como artritis reumatoide, crecimiento tumoral y cicatrización de heridas.

60 La expresión y la regulación de IL-8 se han asociado con diversos estados de enfermedad tales como enfermedad intestinal inflamatoria, aterosclerosis, y trastornos pulmonares. La IL-8 se ha asociado específicamente con fibrosis quística (FQ), dado que es profundamente elevada en fluidos de lavado broncoalveolar, esputo y suero de pacientes de FQ [Dean y otros, Pediatr. Res., 34: 159-161, (1993) y Armstrong y otros, Am J. Resnir. Crit. Care Med., 156: 1197-1204, (1997)].

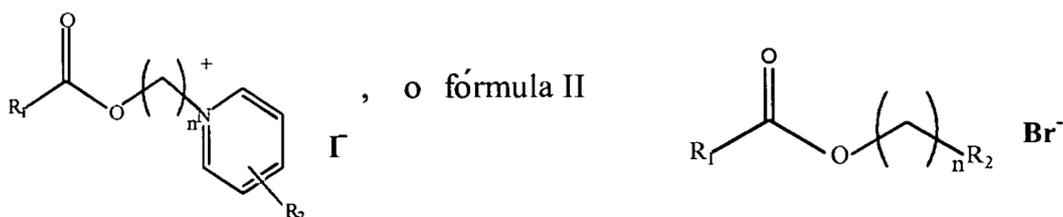
La FQ es la enfermedad mortal autosómica recesiva más común en los Estados Unidos [Welsh y otros, Cystic fibrosis in: The metabolic and molecular bases of inherited diseases [Fibrosis quística en: Las bases metabólicas y moleculares de enfermedades hereditarias] (Scriver, C.L., Beaudet, A.L., Sly, W.S., y Valle, D. eds.) Séptima Ed. págs. 3799-3876, McGraw-Hill, Nueva York. (1995)]. Aproximadamente el 5% de la población porta un gen regulador de la conductancia transmembrana de fibrosis quística (CFTR) mutante [Rommens y otros, Science, 245: 1: 1059-1065, (1989); Riordan y otros, Science, 245: 1: 1066-1073, (1989); y Kerem y otros, Science, 245: 1: 1073-1080, (1989)], y la enfermedad se produce a una frecuencia de 1 de cada 2500 nacidos vivos. Estadísticamente, la muerte se produce en la mayoría de los pacientes a la edad de 28 años. Las dificultades respiratorias y subsiguientes complicaciones de inflamación e infección de pulmón son directamente responsables de la eventual muerte de más del 90% de los pacientes de FQ.

El pulmón con FQ ha sido descrito como microscópicamente normal en el nacimiento, con sutiles anomalías en secreción de moco que aparecen muy temprano [Pilewski y otros, Physiol. Rev., 79: 5215-5255, (1999)]. La infección bacteriana y la prueba objetiva de inflamación se producen en momentos posteriores, con una clara evolución temporal de diferentes patógenos bacterianos principales. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus* y *Hemophilus influenzae* comienzan la residencia en las vías respiratorias con FQ temprano, siendo la edad media de cultivo positivo de 12,4 meses [Abman y otros, J. Pediatrics 119: 211-217, (1991)]. En comparación, la infección por *Pseudomonas aeruginosa* sigue en un tiempo sustancialmente posterior, siendo la edad media del primer cultivo positivo de 20,8 meses. La colonización persistente por *P. aeruginosa* caracteriza al paciente de FQ más antiguo, y la evidencia celular persistente y profunda de inflamación acompaña a la infección persistente a medida que el paciente se acerca a las fases terminales de la enfermedad.

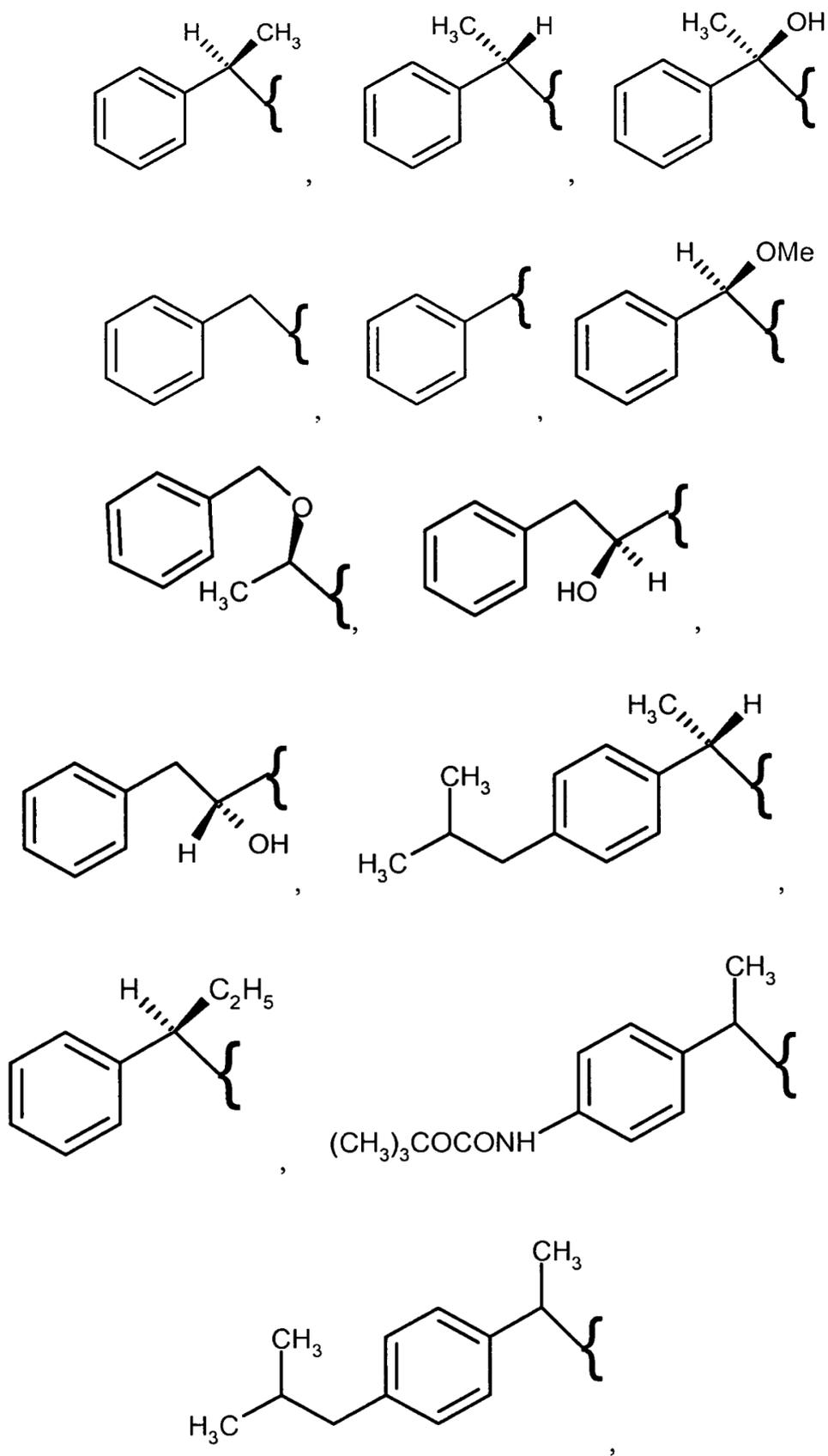
A medida que el paciente de FQ envejece, el pulmón con FQ se vuelve caracterizado por elevados niveles de glóbulos blancos. Estos incluyen leucocitos polimorfonucleares, macrófagos, monocitos, linfocitos y eosinófilos. Se sugiere que estas células son atraídas desde la circulación a la vía respiratoria por los altos niveles de IL-8 y otros factores proinflamatorios tales como IL1 β , IL6, leucotrieno B₄, RANTES, y TNF α . Estos factores marcan el carácter del medio luminal de FQ [Bonfield y otros, Am. J. Respir. Mol. Biol., 13: 257-261, (1995); y Bonfield y otros, Am. J. Respir. Mol. Biol., 125: 2111-2118, (1995)], y entre estos factores, IL-8 figura como el más prevalente y potente. El documento WO02/068377 da a conocer ácidos 2-arilpropiónicos que interfieren con IL-8 y son útiles para el tratamiento de diversas afecciones inflamatorias y relacionadas.

CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

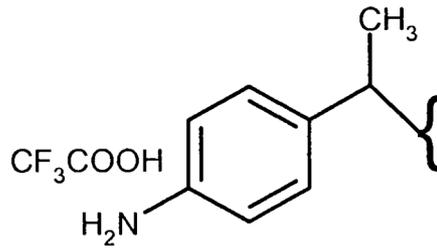
La presente invención se refiere a un compuesto que tiene una estructura de fórmula I



en la que en dicha fórmula I, R₁ se selecciona entre el grupo que comprende:

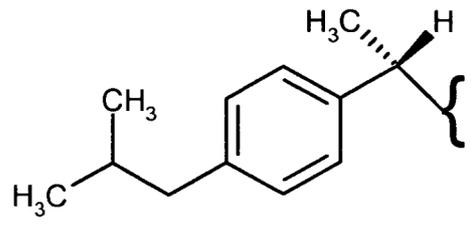


y

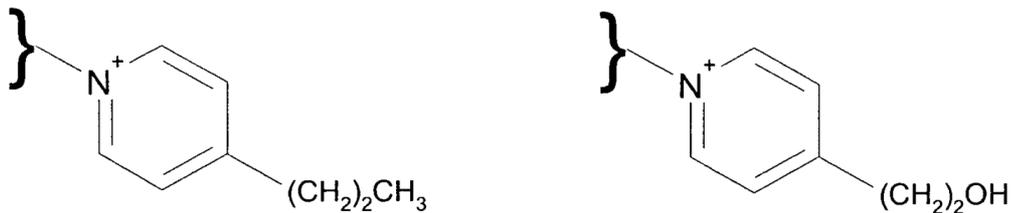
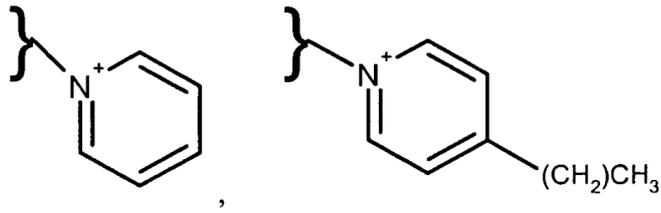
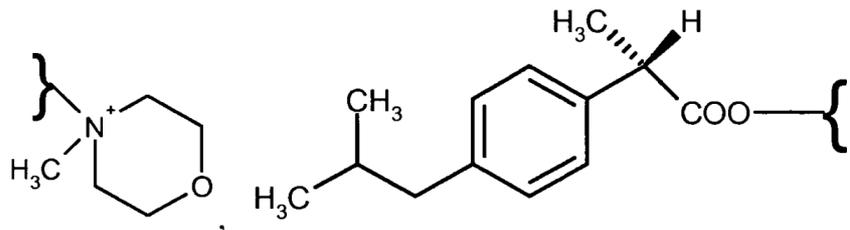


R₂ se selecciona entre el grupo que comprende H y 3-CONH₂, y n es un número entero entre 8 y 10; en el que en dicha fórmula II, R₁ es

5



R₂ se selecciona entre el grupo que comprende:



10

y n es un número entero que vale 8.

La presente invención también da a conocer métodos de preparación de dichos compuestos.

15

La presente invención da a conocer dichos compuestos para su utilización en métodos para suprimir la secreción y la producción de IL-8, y la presente invención da a conocer, además, estos compuestos como compuestos terapéuticos para su utilización en un método de tratamiento de enfermedades relacionadas con IL-8, tales como fibrosis quística.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

5 La figura 1 ilustra la supresión de la secreción de IL8 mediante diferentes concentraciones de compuestos anfífilos de MRS2480 y MRS2481.

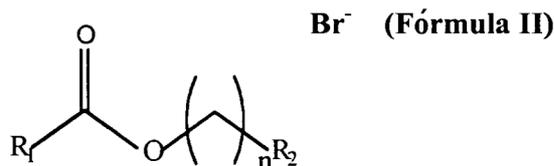
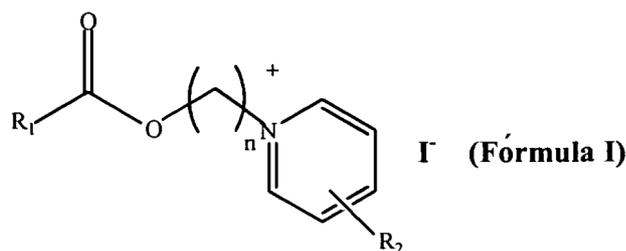
La figura 2 ilustra la supresión de la secreción de IL8 mediante diferentes concentraciones de compuestos anfífilos de MRS2390 y MRS2391.

10 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

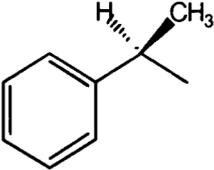
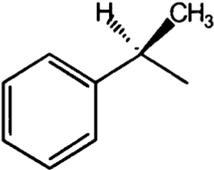
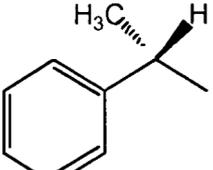
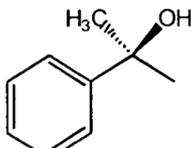
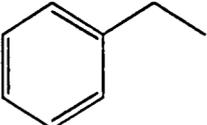
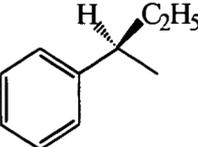
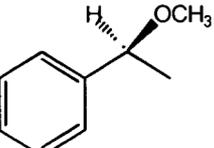
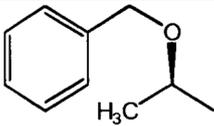
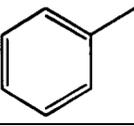
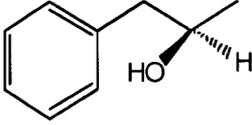
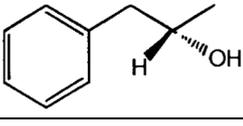
La siguiente descripción detallada se presenta para permitir a cualquier experto en la materia preparar y utilizar la presente invención. Para fines de explicación, se describe nomenclatura específica para proporcionar una comprensión exhaustiva de la presente invención. Sin embargo, será evidente para un experto en la materia que no se requieren estos detalles específicos para poner en práctica la presente invención. Se dan a conocer descripciones de aplicaciones específicas solamente como ejemplos representativos. Diversas modificaciones a las realizaciones preferentes serán fácilmente evidentes para un experto en la materia, y los principios generales definidos en el presente documento pueden aplicarse a otras realizaciones y aplicaciones sin alejarse del alcance de la presente invención. La presente invención no pretende estar limitada a las realizaciones mostradas, sino que debe otorgársele al alcance más amplio posible coherente con los principios y características que se dan a conocer en el presente documento.

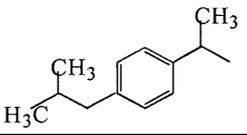
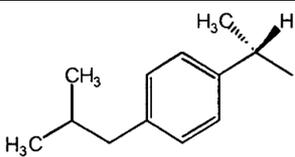
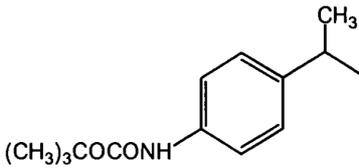
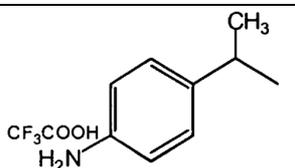
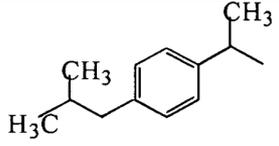
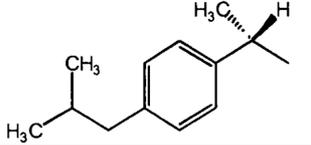
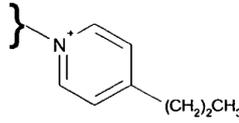
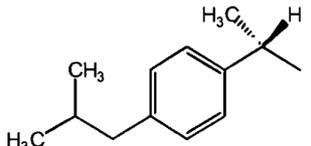
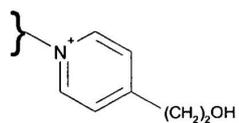
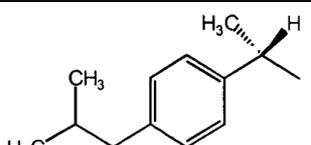
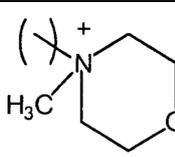
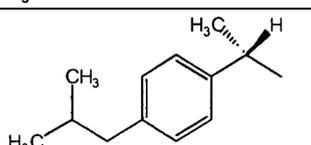
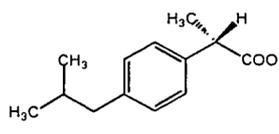
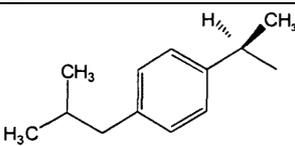
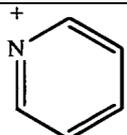
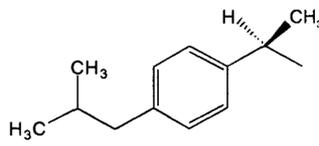
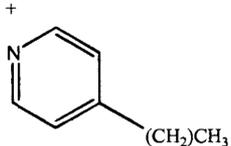
Un aspecto de la presente invención se refiere a compuestos capaces de inhibir la secreción de IL-8 en células de mamífero.

25 Tabla 1. Estructuras de los compuestos de la presente invención.



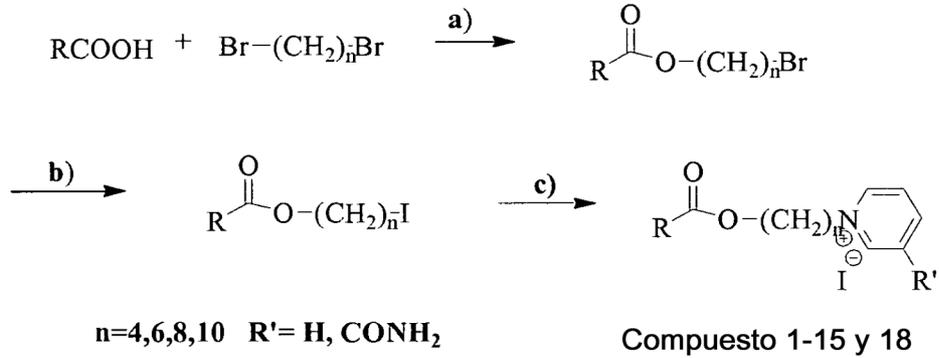
| Compuesto | R1 | n | R2 |
|-----------------------------|----|---|----|
| Fórmula I | | | |
| 1 MRS 2572 | | 4 | H |
| 2 MRS 2573 | | 6 | H |

| Compuesto Fórmula I | R1 | n | R2 |
|------------------------|---|----|----|
| 3 MRS 2481 |  | 8 | H |
| 4 MRS 2574 |  | 10 | H |
| 5 MRS 2485 |  | 8 | H |
| 6 MRS 2515 |  | 8 | H |
| 7 MRS 2480 |  | 8 | H |
| 8 MRS 2591 |  | 8 | H |
| 9 MRS 2506 |  | 8 | H |
| 10 MRS 2507 |  | 8 | H |
| 11 MRS 2513 |  | 8 | H |
| 12 MRS 2514 |  | 8 | H |
| 13 MRS 2516 |  | 8 | H |

| Compuesto | R1 | n | R2 |
|-------------------|---|---|---|
| Fórmula I | | | |
| 14 MRS 2590 |  | 8 | H |
| 15 MRS 2390 |  | 8 | H |
| 16 MRS 2517 |  | 8 | H |
| 17 MRS 2518 |  | 8 | H |
| 18 MRS 2589 |  | 8 | 3-CONH ₂ |
| 19 MRS 2421 |  | 8 |  |
| Fórmula II | | | |
| 20 MRS 2423 |  | 8 |  |
| 21 MRS 2422 |  | 8 |  |
| 22 MRS 2391 |  | 8 |  |
| 23 |  | 8 |  |
| 24 |  | 8 |  |

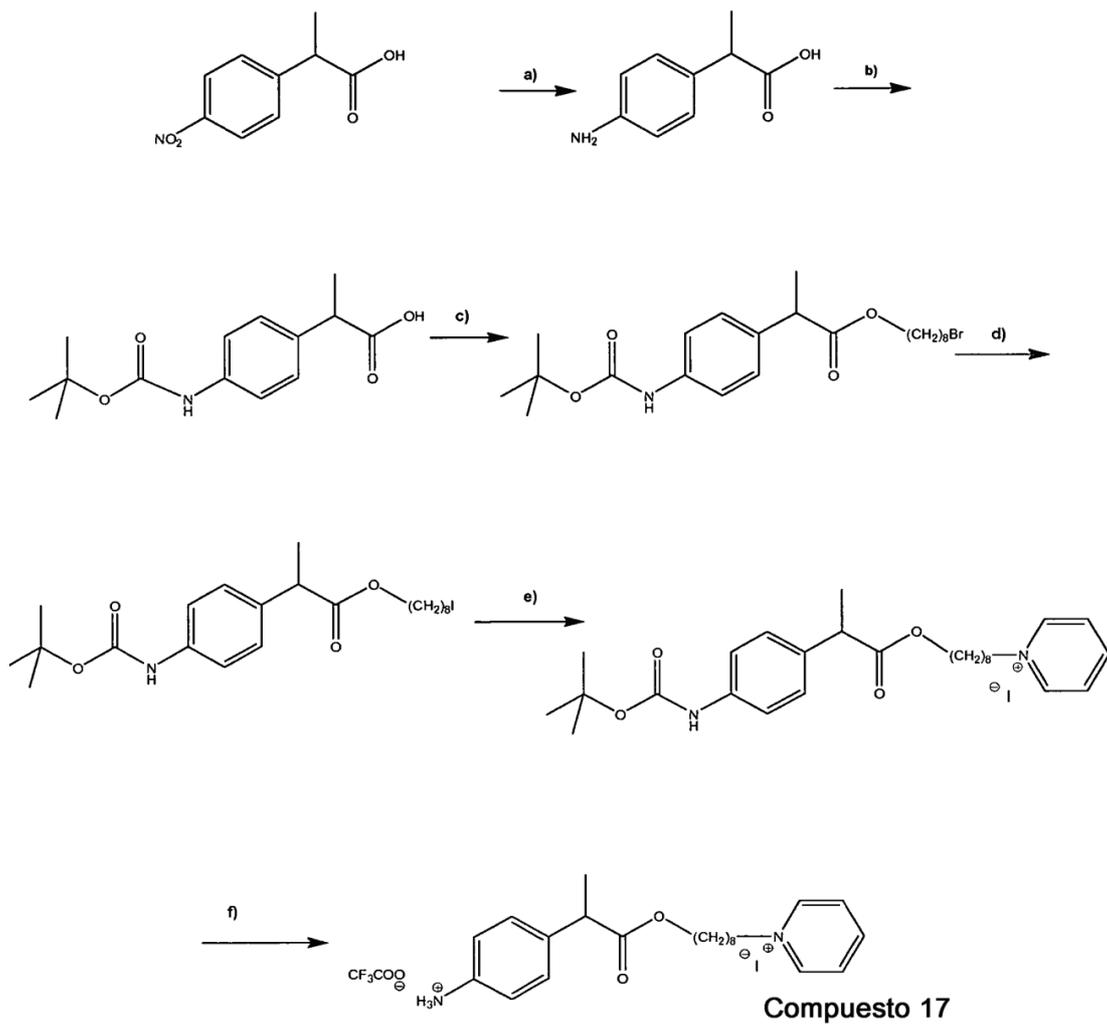
Otro aspecto de la presente invención se refiere a la síntesis de los compuestos de la tabla I. En resumen, estos compuestos se sintetizan mediante los siguientes esquemas:

Esquema 1:



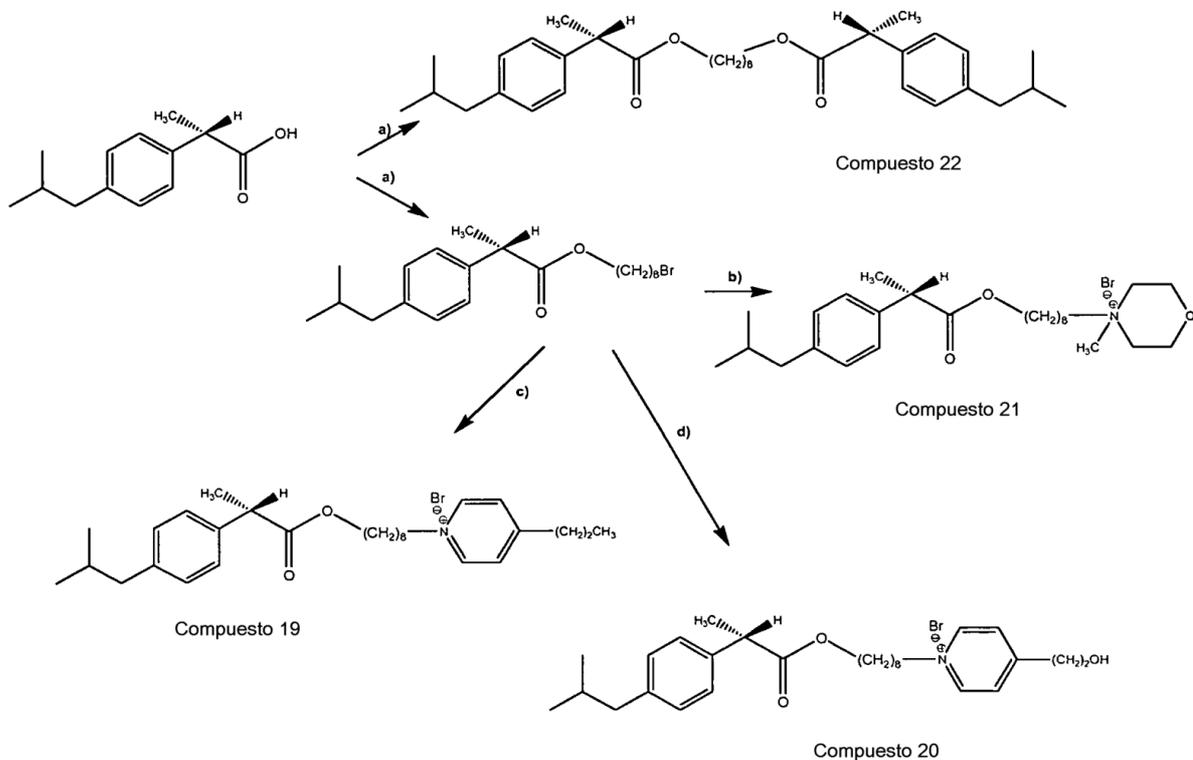
- 5 En el esquema 1, a) es mezclar $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{OH}$ y TBAI a temperatura ambiente (T.A.) durante 2 días, b) es mezclar NaI en acetona y c) es derivado de piridina en acetona a 50° durante 3 días.

Esquema 2:



En el esquema 2, a) es mezclar Sn, AcOH y HCl a 100°C durante 1,5 horas, b) es mezclar (tButil)₂carbonato en MeOH a 45°C durante 1 hora, c) es mezclar C₆H₅N(CH₃)₃OH y TBAI a T.A. durante 2 días, d) es mezclar NaI en acetona, e) es derivado de piridina en acetona a 50° durante 3 días y f) es TFA.

Esquema 3



5 En el esquema 3, a) es mezclar Dibromooctano, C₆H₅N(CH₃)₃OH y TBAI a T.A. durante 3 días, b) es mezclar 4-Metilmorfolina, TBAI en acetona a 50° durante 2 días, c) es mezclar 4-propil-pi y TBAI en acetona a 50° durante 3 días, y d) es mezclar 4-OH-etil-pi TBAI en acetona a 50° durante 3 días.

10 Otro aspecto más de la presente invención se refiere a los compuestos de la tabla 1 para su utilización en un método para tratar las enfermedades o afecciones relacionadas con IL-8. Los ejemplos de enfermedades o afecciones relacionadas con IL-8 incluyen, aunque no constituyen limitación, trastornos y afecciones de pulmón tales como fibrosis quística, operaciones de circulación extracorpórea, parada cardiorrespiratoria, enfermedad intestinal inflamatoria, aterosclerosis, lesiones térmicas, lesión causada por un ácido, inhalación de humo, edema pulmonar por reexpansión, lesión cerebral traumática, apoplejía, diabetes, rechazo de injerto en transplante, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, infecciones víricas tales como VIH, cáncer, fiebres resistentes a inhibidores de ciclooxigenasa, artritis reumatoide y trastornos inflamatorios relacionados.

20 En una realización, como mínimo uno de los compuestos de la tabla I es para su utilización en un método para tratar FQ. En una realización preferente, los compuestos comprenden, como mínimo, uno de los Compuestos 3 (MRS2481), 4 (MRS 2574), 7 (MRS 2480), 8 (MRS 2591), 15 (MRS2390), 16 (MRS 2517), 18 (MRS 2589) y 19 (MRS2421). En una realización más preferente, el compuesto o compuestos comprenden los Compuestos 3, 4, 8, 15, 16, 18 y 19. En la realización más preferente, los compuestos comprenden los Compuestos 3. La IL-8 está muy elevada en fluidos de lavado broncoalveolar, esputo y suero de pacientes de FQ [Dean y otros, *Pediatr. Res.*, 34: 159-161, (1993), Richman-Eisenstat y otros, *Am. J. Physiol.*, 264: L413-418, (1993); y Armstrong y otros, *Am J. Resnir. Crit. Care Med.*, 156: 1197-1204, (1997)]. De forma importante, la hipersecreción de IL-8 se produce antes de la evidencia objetiva de infección por virus, hongos o bacterias patógenas de FQ comunes [Khan y otros, *Am J Respir Crit Care Med.*, 151(4): 1075-82. (1995)]. La generalidad de un estado proinflamatorio para epitelios con FQ se demuestra adicionalmente por el hecho de que los niveles de IL-8 fecal en niños con FQ son aproximadamente 1000 veces más elevados con respecto a controles sin FQ [Briars y otros, *J. Biol. Chem.*, 273: 3551-3556, (1995)]. Los niveles de IL-8 fecal se correlacionan con la función pulmonar (VEF1, volumen de espiración forzada en un segundo), y solamente en cierta medida con la infección por *Pseudomonas* establecida. Las biopsias de pacientes con FQ que se han sometido a transplante de pulmón han demostrado regulación positiva coherente de la expresión de IL-8 en células de glándulas submucosales [Tabary y otros, *Am J. Path.*, 153: 921-930, (1998)]. En base a estos criterios clínicos, los niveles altos de IL-8 serían intrínsecos del pulmón con FQ.

- 5 Las células epiteliales de las vías respiratorias aisladas de pacientes con FQ secretan de forma sistemática más IL-8 que las células cultivadas de pacientes sin FQ [Bedard y otros, *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.*, 9: 455-462, (1993); Ruef y otros, *Eur. Resp. J.*, 6: 1429-1436, (1993); DiMango y otros, *J. Clin. Invest.*, 96: 2204-2210, (1998)]. Se ha propuesto que la alta secreción de IL-8 desempeña un papel importante en las células epiteliales de pulmón con FQ, y es probable que sea causada por CFTR mutante. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención capaces de reducir la secreción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar FQ.
- 10 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para reducir las reacciones adversas asociadas a IL-8, en el que dicho compuesto es administrado a un mamífero durante y después de operaciones de circulación extracorpórea. Las operaciones de circulación extracorpórea están asociadas con una elevación transitoria de IL-8 y otras citoquinas circulantes [Nandate y otros, *Anesth. Anal.*, 89: 823-828, (1999)]. La disfunción cerebral después de la operación se produce en algunos pacientes, y el mecanismo puede implicar la activación de procesos inflamatorios en el cerebro. Se demostró que durante y después la operación de derivación, los niveles de IL-8 son sistemáticamente más altos en el bulbo yugular, que contiene sangre que viene del cerebro hacia el corazón, que en las muestras arteriales emparejadas [Nandate y otros, *supra*]. Podía descubrirse que la producción específica y significativa de IL-8 se producía en el lecho cerebrovascular durante y después de la operación. Se describió que, como mínimo, una intervención, hipotermia, suprime los cambios. Por ejemplo, el alelo de apolipoproteína E4 está asociado con una mayor propensión a aterosclerosis, niveles más altos de lipoproteína y enfermedad de Alzheimer temprana. Los pacientes que portan el alelo de apolipoproteína E4 tienen mayores niveles iniciales de IL-8 y TNF α que los pacientes que carecen de este alelo [Drabe y otros, *J. Cardiothorac. Surg.*, 20: 609-613, (2001)]. Después de la circulación extracorpórea, los pacientes con apolipoproteína E4, que comprenden el 27% de la cohorte de pacientes, también presentan una mayor liberación tanto de IL-8 como de TNF α , en comparación con los pacientes que carecen de este alelo. Se sugiere, por lo tanto, que los pacientes con el genotipo de E4 deben tener terapia perioperatoria adicional para la respuesta inflamatoria sistémica incrementada de forma aberrante. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que interfieren en la producción de IL-8 son para su utilización en un método para mejorar la morbilidad y la mortalidad asociadas con operaciones de circulación extracorpórea.
- 30 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar parada cardiorrespiratoria. Los pacientes que llegan a la sala de emergencias del hospital después de sufrir una parada cardiorrespiratoria (PCR) tienen niveles aumentados de IL-8 y TNF α en suero. Estos niveles alcanzan un máximo en un plazo de 12 horas después del ingreso, o en un plazo de 6 horas después del retorno de la circulación espontánea (RDCE) [Ito y otros, *Resuscitation*, 51: 47-53, (2001)]. El suero de niveles de IL-8 en aquellos pacientes con niveles significativamente más altos de IL-8 tiende a morir o sufrir muerte cerebral en una semana del retorno de la circulación espontánea [Ito y otros, *supra*]. La administración excesiva de epinefrina también está asociada con niveles significativamente elevados de IL-8 después del retorno de la circulación espontánea. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que interfieren en la producción de IL-8 son para su utilización en un método para mejorar la morbilidad y la mortalidad asociadas con parada cardiorrespiratoria.
- 35 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar enfermedades intestinales inflamatorias. La IL-8 y otras quimioquinas han estado implicadas en la patogenia de la enfermedad intestinal inflamatoria [Imada y otros, *Scand. J. Gastroent.*, 36: 854-864, (2001)]. Los niveles de IL-8 son especialmente elevados en cultivos de órganos agudos de pacientes con colitis ulcerosa activa. La expresión aumentada del mensaje de IL-8 puede detectarse en macrófagos, miofibroblastos pericrípticos y epitelio [Imada y otros, *supra*]. Se ha propuesto que la grasa de la dieta exacerba la inflamación intestinal, y estudios con monocapas de células epiteliales de colon indican que los ácidos grasos de cadena media tales como ácido oleico causan una elevación de cinco veces de la secreción de IL-8 [Tanaka y otros, *J. Gastroent. Hepatol.*, 16: 748-754, (2001)]. El proceso sigue la anatomía de la digestión, dado que el ácido graso se añade en el lado apical (luminal), mientras que la secreción de IL-8 se produce en la dirección baso-lateral (serosal). Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que interfieren en la producción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar enfermedades intestinales inflamatorias.
- 45 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar aterosclerosis. Los procesos de inflamación están asociados con la patogenia de aterosclerosis, y se descubren altos niveles de IL-8 en placas ateromatosas [Wang y otros, *J. Biol. Chem.*, 271: 8837-8842, (1996)]. Los procesos que regulan la síntesis de IL-8 pueden estudiarse *in vitro* en cultivos de células endoteliales aórticas humanas. La IL-8 se sintetiza en estas células mediante múltiples rutas convergentes [Tanaka y otros, *J. Gastroent. Hepatol.*, 16: 748-754, (2001)]. Por ejemplo, la prevastatina (un inhibidor de 1,3-hidroxi-3-metilglutaril co-enzima A reductasa) no solamente rebaja el colesterol, sino que también suprime la producción de IL-8 inducida por trombina en estas células cultivadas en medio rico en glucosa. El efecto no es sobre el valor inicial de los niveles de IL-8, sino sobre niveles estimulados inducidos por trombina. El mecanismo implica la inhibición de la transición inducida por trombina de *ras* desde el citosol a la membrana plasmática. La consecuencia es la supresión de la activación de la ruta de quinasa *ras*-MAP (p44/42), pero no de la propia quinasa. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que

se dirigen específicamente a la producción de IL-8 son para su utilización en un método para tratar aspectos inflamatorios de la aterosclerosis.

5 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar trastornos y afecciones de pulmón, diferentes de fibrosis quística. Aunque los niveles de IL-8 en pulmones con FQ están elevados tónicamente con respecto a controles en 1000 veces o más, niveles mucho más modestos de elevación de IL-8, en el intervalo de 2-10 veces, se han observado en algunas enfermedades y trastornos pulmonares más. Se han descrito elevaciones modestas pero significativas de IL-8 en asma no eosinófilo [Gibson y otros, *Chest.*, 119: 1329-1336, (2001)]. Los niveles de IL-8 en niños asmáticos son detectables, y se correlacionan con los síntomas [Marguet y otros, *Pediatr. Allergy Immunol.*, 12: 27-33, (2001)]. Se han descubierto niveles de IL-8 algo elevados en hipersensibilidad de las vías respiratorias no específica asintomática (HSB) [Betz y otros, *Lung*, 179: 119-133, (2001)]. Los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), utilizados a veces como control para fibrosis quística, también tienen niveles altos de IL-8 (Betz y otros, *supra*). Se ha sugerido que HSB y EPOC están relacionadas temporalmente dado que la HSB asintomática puede evolucionar a EPOC. Generalmente, los pacientes multi-traumáticos a menudo desarrollan neumonía nosocomial (NN), y un nivel alto de IL-8 en fluidos de lavado broncoalveolar del paciente entrante es predictivo del desarrollo de NN [Muehlstedt y otros, *Surgery*, 130: 602-609, (2001)]. Por estas razones, los compuestos de la presente invención que se dirigen específicamente a la producción de IL-8 son para su utilización en un método para tratar y/o prevenir asma, HSB, EPOC y NN.

20 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar lesiones térmicas (por ejemplo quemaduras). Las quemaduras están asociadas estrechamente con aumentos de citoquinas tales como TNF, IL-6 e IL-8 en la circulación sistémica, piel y pulmones normales y lesionados térmicamente [Rodríguez y otros, *J. Trauma.*, 34: 684-694, (1993); y Vindenes y otros, *J. Trauma.*, 39: 635-640, (1995)]. La respuesta de citoquinas del pulmón a lesión térmica aguda puede ser responsable del inicio de fallo orgánico local. Los niveles más altos de IL-8 están asociados con pacientes sépticos que murieron [Yeh y otros, *Burns*, 23: 555-559, (1997), y los niveles altos de IL-8 también están asociados con la cicatrización retardada de heridas térmicas, mediante la supresión de la replicación de fibroblastos y, la inhibición de la ATPasa miosina [Iocono y otros, *Wound Repair Regeneration*, 8: 216-225, (2000)]. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que interfieren en la producción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar lesiones térmicas.

35 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar pancreatitis aguda. La pancreatitis aguda en seres humanos a menudo está asociada un síndrome de fallo multiorgánico (SFMO), que afecta principalmente al pulmón [Bhatia y otros *Curr. Opin. Invest. Drugs*, 2: 496-501, (2001)]. Se han estudiado modelos experimentales de pancreatitis aguda en conejos, en los que la IL-8 es elevada en el suero y el pulmón, y se observó lesión de pulmón aguda [Osman y otros, *Gut*, 43: 232-239, (1998); y Osman y otros, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 11: 137-149, (1999)]. La infusión de un anticuerpo contra IL-8 durante la pancreatitis aguda previene el daño pulmonar, como se demuestra mediante la infiltración de neutrófilos reducida en el pulmón, mientras que la necrosis pancreática y la liberación sistémica de enzimas pancreáticas no resultan afectadas (Osman y otros, *supra*, 1998). Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que suprimen la producción de IL-8 durante pancreatitis aguda son para su utilización en un método para suprimir SFMO.

45 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar inhalación de humo. La inhalación de humo como se ha descubierto en víctimas de incendios o bomberos heridos, causa lesión endotelial pulmonar y formación de edema pulmonar. Laffon y otros (1999) han desarrollado un modelo de conejo en el que humo enfriado causa un aumento significativo de la permeabilidad epitelial alveolar y una reducción significativa del transporte bidireccional de la proteína a través del epitelio pulmonar [Laffon y otros, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 160: 1443-1449, (1999)]. Laffon y otros (1999) muestran que la administración de un anticuerpo anti-IL-8 restaura la permeabilidad epitelial alveolar a niveles normales y aumenta significativamente el transporte bidireccional de proteínas. La IL-8 incrementada de este modo es un importante mediador de lesión pulmonar después de la inhalación de humo, y los compuestos de la presente invención capaces de suprimir la producción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar lesión pulmonar por inhalación de humo.

55 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar lesiones provocadas por un ácido. Las lesiones provocadas por un ácido al pulmón están asociadas con un aumento de la permeabilidad epitelial alveolar a proteínas y una reducción de la eliminación de fluido alveolar neta [Modelska y otros, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 160: 1441-1442, (1999)]. El pretratamiento con un anticuerpo anti-IL-8 reduce significativamente el aumento mediado por ácido del transporte bidireccional de proteínas a través del epitelio alveolar y restaura la eliminación de fluido alveolar al nivel normal (Modelska y otros, *supra*). Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de suprimir la producción de IL-8 deben ser compuestos terapéuticos útiles para su utilización en un método para tratar las lesiones pulmonares provocadas por un ácido.

65 En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar edema pulmonar por reexpansión (EPR). El EPR a menudo sigue a la reexpansión de un pulmón replegado debido a un mecanismo de permeabilidad microvascular aumentada y acumulación de células inflamatorias [Nakamura y otros,

Am. J. Respir. Crit. Care Med., 161: 1030-1036, (2000)]. La sobreproducción local de IL-8 es responsable del proceso. El pretratamiento con anticuerpo anti-IL-8 reduce significativamente el recuento de neutrófilos en fluido de lavado broncoalveolar (LBA) y suprime el EPR. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de suprimir la producción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar edema pulmonar por reexpansión en el pulmón.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar lesión cerebral traumática y apoplejía. Después de la lesión cerebral traumática, se producen aumentos de los niveles de IL-8 y otras citoquinas proinflamatorias [Ott y otros, J. Neurotrauma, 11: 447-472, (1994)]. En niños con lesiones graves en la cabeza, existe una asociación significativa entre la supervivencia después de la lesión cerebral traumática y los niveles de IL-8 en el líquido cefalorraquídeo (LCR) [Whalen y otros, Crit. Care. Med., 28: 1221-1234, (2000); véase también Sherwood y otros, Crit. Care. Med., 28: 1221-1223 (2000)]. La IL-8 y los agentes relacionados desempeñan un papel fundamental en la cascada celular de la lesión, tanto de forma central como periférica induciendo fiebre, neutrofilia, descomposición muscular, metabolismo de aminoácidos alterado, hundimiento de los niveles de zinc en el suero, producción de reactivos de fase aguda hepática, permeabilidad endotelial aumentada y expresión de moléculas de adhesión endotelial. [Ott y otros, J. Neurotrauma, 11: 447-472, (1994)]. Además, se han identificado características específicas del intestino, el hígado y el pulmón debido a IL-8 y otras citoquinas procedentes del cerebro tales como IL-1, IL-6 y TNF α . [Ott y otros, *supra*]. Además, el origen cerebral de las IL-8, IL-1 e IL-6 circulantes ha sido validado, dado que después de un traumatismo cerebral, estas interleuquinas están más altas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) que en el plasma [Kossmann y otros, J. Cerebr. Blood. Flow Metab., 17: 280-289, (1997); Maier y otros, Shock, 15: 421-426, (2001)]. Los valores máximos de IL-8 en el LCR también están asociados con la destrucción de la barrera hematoencefálica (Kossmann y otros, *supra*; Maier y otros, *supra*). Aunque parece que hay un papel para IL-8 en la estimulación de la reparación en el cerebro mediante la ruta de NGF (Kossmann y otros, *supra*), los niveles de IL-8 masivamente elevados observados en lesión cerebral traumática parecen ejercer una conexión fuerte, patofisiológica contraria con las consecuencias adversas de la lesión cerebral traumática. Estos datos sugieren que los compuestos de la presente invención capaces de suprimir la producción de IL-8 deben ser útiles para su utilización en un método para reducir la morbilidad y la mortalidad después de una lesión cerebral traumática, permitiendo de este modo la aparición de cualesquiera acciones reparadoras positivas de los niveles bajos de IL-8.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar apoplejía. La apoplejía, un traumatismo cerebral isquémico localizado, aumenta significativamente los niveles de IL-8 y otros factores relacionados en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Los niveles de IL-8 aumentan inmediatamente después de una apoplejía, y alcanzan un máximo el día 2 [Tarkowski y otros, Clin. Exp. Immunol., 110: 492-499, (1997)]. Se observan niveles más altos de IL-8 en el LCR después de apoplejías de la materia blanca que de apoplejías de la materia gris. Después de una apoplejía, los niveles de ARNm de IL-8 en neutrófilos de la sangre periférica siguen aumentados durante hasta 30 días después de la apoplejía, mientras que otras citoquinas vuelven al nivel normal [Kostulas y otros, Stroke, 30: 2174-2170, (1999)]. En modelos animales de apoplejía, se ha descubierto que la administración intracisternal de anticuerpos de bloqueo para IL-8 previene la lesión por reperfusión cerebral, y lesión pulmonar similar a síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) inducida por endotoxemia [Matsumoto y otros, J. Leukoc. Bio., 62: 581-587, (1997); Mukaida y otros, Inflamm. Res., Suppl: S151-157, (1998)]. También se ha descrito que un anticuerpo de neutralización de IL-8 intracisternal reduce el edema cerebral y el tamaño del infarto en el cerebro de conejo después de isquemia focal transitoria experimental (Matsumoto y otros, Lab Invest., 77: 119-125, (1997)]. Estos datos indican que los compuestos de la presente invención con las capacidades para rebajar los niveles cerebrales de IL-8 serían útiles para su utilización en un método para tratar y prevenir apoplejía.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar diabetes. La diabetes está asociada con una elevación de aproximadamente 4 veces de IL-8 en suero ambiente [Zozulinska y otros, Diabetologia, 42: 117-118, (1999)]. El aumento es válido para diabéticos tanto de tipo I como de tipo II, y se correlaciona significativamente con niveles de hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}), y este estudio se realizó en una serie de pacientes sin evidencias de infección aguda o crónica, fallo renal o cetoacidosis, y una serie de controles de edad equivalente. Los datos de apoyo han sido descritos por Yuuki y otros en el documento J. Diabetes Complications, 15: 257-259, (2001). La señal de IL-8 es una fuerte baliza para leucocitos polimorfocitos, y la relación es coherente con un fenotipo proinflamatorio para diabetes. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de suprimir la producción de IL-8 deben ser útiles para su utilización en un método para tratar complicaciones de la diabetes.

Además, una de las principales complicaciones en diabetes es el daño vascular en la retina debido a altos niveles de glucosa. La retinopatía diabética proliferativa (RDP) es la causa más común de ceguera en la población de Estados Unidos y la Europa occidental. Los niveles de IL-8 que se producen en el humor vítreo de pacientes de diabetes con RDP son significativamente más altos. [Elner y otros, Curry Eye Res., 14: 1045-1053, (1995) y Yuuki y otros, J. Diabetes Complications, 15: 257-259, (2001)]. Por el contrario, los niveles de IL-8 en el humor vítreo de pacientes no diabéticos con RDP, un síndrome análogo no asociado con la diabetes, son equivalentes a los niveles de control descubiertos en ojos normales. Además, otras afecciones tales como agujeros maculares idiopáticos, pliegues

maculares idiopáticos, hemorragias vítreas, o desprendimientos retinales no complicados tienen un fenotipo de niveles de IL-8 normales en el humor vítreo.

Además, los niveles elevados de IL-8 pueden encontrarse solamente en casos activos de RDP, pero no en casos de RDP inactiva. [Einer y otros, Arch. Ophthal., 116: 1597-1601, (1998)]. Las altas concentraciones de glucosa inducen elevada expresión de ARNm de IL-8 en células endoteliales aórticas humanas cultivadas, pero no en células de músculo liso [Temaru y otros, Diabetologia, 40: 610-613, (1997)]. Estos datos sugieren que la macroangiopatía diabética es causada por un gradiente dependiente de glucosa de IL-8 entre el músculo liso y la íntima arterial, e IL-8 participa en la patogenia de retinopatía diabética proliferativa. Por estas razones, los compuestos de la presente invención que suprimen específicamente la producción de IL-8 son útiles para su utilización en un método para tratar complicaciones diabéticas tales como retinopatía diabética.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar rechazo de injerto en trasplante. El éxito de la cirugía de trasplante de riñones, pulmones y otros órganos depende de órganos de donantes de alta calidad que tienden a no ser rechazados por el receptor. La inflamación en el órgano del donante, según lo evidenciado mediante altos niveles de IL-8, está asociada a una mayor probabilidad de rechazo de injerto por el receptor [Zivna y otros, Transpl. Proc., 31:2094, (1999)]. El aumento de las concentraciones de IL-8 en el suero y la orina en receptores 24 horas después del trasplante de riñón es predictivo de futuros episodios de rechazo [Zivna y otros, *supra*]. En el caso de trasplantes de pulmón, un nivel aumentado de IL-8 en el fluido de lavado broncoalveolar (LBA) del donante está asociado con fallo de injerto temprano grave y mortalidad temprana del receptor [Fisher y otros, Am. J. Respir. Crit. Care Med., 163: 259-265, (2001)]. Los pacientes de traumatismo grave y la frecuente fuente de pulmones para trasplante, a menudo tienen niveles aumentados de IL-8, así como neutrófilos que son atraídos por IL-8. [Fisher y otros, *supra*]. Los niveles de IL-8 son 10 veces más bajos en trasplantes renales vivos no relacionados en comparación con riñones de cadáveres [Stangl y otros, Transplant. Proc. 33: 1284-1285, (2001)]. El nivel más bajo de IL-8 es la razón para resultados a largo plazo superiores a partir de los trasplantes renales vivos. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de suprimir la producción de IL-8 son útiles para su utilización en un método para reducir la incidencia de rechazo y muerte del receptor.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar enfermedad de Alzheimer. Se cree que la enfermedad de Alzheimer, que afecta a una fracción cada vez mayor de la población de edad avanzada, se debe a los efectos tóxicos del péptido beta amiloide originario del cerebro (A β P). La base patológica de la acción de A β P sobre las neuronas es el aumento del Ca²⁺ intracelular a través de los canales de calcio formados por el propio A β P [Arispe y otros, PNAS USA, 90: 567-571, (1993); y Arispe y otros, PNAS USA, 89: 1539-1543, (1996)]. Entre las consecuencias de esta acción, está el aumento de rutas inmunitarias/inflamatorias asociado con IL-8 en áreas afectadas del cerebro. Dichas áreas afectadas incluyen la corteza y el hipocampo. Se demostró que A β P estimula la secreción de IL-8 a partir de células de astrocitoma humanas [Gitter y otros, PNAS USA, 92: 10738-10741, (1995)]. Además, la IL1b potencia la acción de A β P sobre la secreción de IL-8 por astrocitos en 10 veces, un proceso que es bloqueado totalmente por quelantes de calcio tales como EGTA. La diana inmediata de la IL-8 secretada pueden ser receptores de IL-8, que son abundantes en el sistema nervioso central. Además, se describió que IL-8RB se colocaliza con neuritis positiva para A β P en cerebro con enfermedad de Alzheimer, pero no con filamentos helicoidales emparejados (FHE) o tau hiperfosforilada (AT8) [Xia y otros, Am. J. Path., 150: 1267-1274, (1997)]. Por lo tanto, la IL-8 desempeña un importante papel en el cerebro normal para señalización entre las neuronas y la glía, y desempeña un importante papel en el cerebro con enfermedad de Alzheimer para potenciar la destrucción inmunitaria de neuronas. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención que interfieren en la secreción de IL-8 en el cerebro son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar enfermedad de Alzheimer.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar enfermedad de Parkinson. La enfermedad de Parkinson, causada por la destrucción de la sustancia negra compacta en el mesencéfalo, se une a la enfermedad de Alzheimer como uno de los trastornos neurodegenerativos cuya incidencia se manifiesta cada vez más en la población de edad avanzada. Los polimorfismos de genes asociados con la ruta de TNF α proinflamatorio se han descubierto y se ha interpretado que indican un efecto inmunomodulador sobre enfermedad de Parkinson esporádica [Kruger et al, J. Neural. Transm., 107: 553-562, (2000); Nishimura y otros, Neurosci Lett., 311(1): 1-4, (2001)]. El TNF α puede tener un efecto tóxico sobre la enfermedad de Parkinson, implicando acción a nivel de la sustancia negra en el cerebro. La MPTP (N-metil-1-4 fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) es una neurotoxina que causa un síndrome similar a la enfermedad de Parkinson en organismos tan filogenéticamente diversos como peces de colores y seres humanos [Pollard y otros, Anatomical Rec., 259: iii-ix, (1992); Goping y otros, Brain Res., 678: 35-52, (1995)]. Los genes asociados con rutas inflamatorias han demostrado estar inducidos en cerebro de ratón por MPTP [Grunblatt y otros, J. Neurochem, Jul 78(1): 1-1.2, (2001); Mandel y otros, J. Neural Transm Suppl, 2000: 117-24, (2000)]. Dado que la ruta de TNF α termina en el promotor de IL-8, los compuestos de la presente invención capaces de suprimir la producción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar enfermedad de Parkinson.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar VIH y otras infecciones víricas. La infección por VIH-1 de macrófagos da como resultado la elevación de la síntesis y la secreción de IL-8 por las células infectadas. A la inversa, la IL-8 estimula la replicación de VIH-1 en macrófagos y linfocitos T [Lane y otros, *J. Virol.*, 75(17): 8195-202, (2001)]. Se demostró, de forma consecuyente, que niveles aumentados de IL-8 son presentados en el tejido linfoide de pacientes con SIDA. Además, los compuestos que bloquean los receptores de IL-8 también inhiben la replicación de VIH-1 tanto en linfocitos T como en macrófagos. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de interferir en la secreción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar infección por VIH-1 y SIDA.

Además, los pacientes infectados por VIH-1 a menudo desarrollan trastornos neurológicos y demencia asociada a VIH-1 después de la invasión del cerebro por células T activadas y macrófagos infectados. El péptido Tat (72 aa) del VIH-1 induce potencialmente IL-8 y citoquinas relacionadas en astrocitos [Kutsch y otros, *J. Virol.*, 74: 9214-9221, (2000)]. El mensaje de IL-8 se observa en un plazo de una hora y se produce la proteína IL-8. Dado que la IL-8 potencia la infección por VIH-1, los compuestos de la presente invención capaces de interferir en la secreción de IL-8 son útiles para su utilización en un método para prevenir o suprimir infecciones por VIH-1 en el SNC que conducen a demencia asociada a VIH-1.

Otros agentes virales tienen un impacto, directa o indirectamente, sobre la producción de IL-8 por células diana. En el caso de adenovirus, el producto génico adenoviral E1A prepara a células epiteliales alveolares para producir niveles elevados de IL-8 cuando se exponen a materia particulada medioambiental que tiene menos de 10 micrómetros de diámetro (a saber, PM(10)) o peróxido de hidrógeno (H₂O₂) [Gilmour y otros, *Am. J. Physiol. Lung Ce. Mol. Physiol.*, 281: 598-606, (2001)]. En el caso del rinovirus humano (RVH-14), una línea de células epiteliales bronquiales humanas, los factores de crecimiento TNF α y EGF indujeron a las células tanto a sintetizar niveles aumentados de IL-8 como a apoyar una replicación viral aumentada. [Subauste y otros, *Int. Immunopharmacol.*, 1: 1229-1234, (2001)]. En el caso del virus respiratorio sincitial (VRS), existe un elemento sensible bien conocido para VRS en el promotor de IL-8 (a saber, el RSVRE) que soporta un nivel ampliamente aumentado de producción de IL-8 durante la infección por VRS. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de interferir en la producción de IL-8 son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar algunas infecciones víricas, o suprimir síntomas inflamatorios asociados.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar el cáncer. La terapia génica adenoviral con antisentido para IL-8 ha tenido éxito en la reducción del crecimiento de células tumorales de vejiga humana que crecen de forma subcutánea en ratón desnudo [Inoue y otros, *Oncol. Rep.*, 8: 955-964, (2001)]. Las inyecciones de la construcción adenoviral se realizaron directamente en el cuerpo del tumor, y solamente dieron como resultado la inhibición de la tasa de crecimiento con respecto a la capacidad de control. Los compuestos de la presente invención capaces de interferir en la producción de IL-8 son útiles para su utilización en un método para interferir en el crecimiento, desarrollo o metástasis tumoral.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar fiebre que es resistente a inhibidores de ciclooxigenasa. Se sabe que algunas fiebres son resistentes a los inhibidores de ciclooxigenasa, y un tipo de fiebre causada por inyección intracerebrovascular de IL-8 entra dentro de esta categoría [Zampronio y otros, *Am. J. Physiol.*, 266: R1670-1674, (1994)]. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de interferir en la secreción de IL-8 en células cerebrales son útiles como antipiréticos para su utilización en un método para tratar fiebres resistentes a inhibidores de ciclooxigenasa.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar psoriasis. La psoriasis es un trastorno cutáneo proliferativo incapacitante asociado con la elevación sistémica de linfocitos [Hoxtermann y otros, *Dermatology*, 196: 223-230, (1998)] y otras evidencias de producción aberrante de citoquinas [Stoof y otros, *Br. J. Dermatol.*, 144: 1114-1120, (2001)]. Se demostró que el fármaco antipsoriásico dimetilfumarato (DMF), en el intervalo de 5-50 μ M, suprime la producción de IL-8 y citoquinas relacionadas inducida por interferón-gamma (INF γ) por queratinocitos humanos [Stoof y otros, *supra*]. Se piensa que estas citoquinas son responsables de la perpetuación de las lesiones de psoriasis. El mecanismo de DMF sobre la producción de IL-8 puede ser a través de la ruta de NF κ B, dado que el DMF causa la acumulación nuclear de NF κ B1/p50 inducidos por citoquinas en fibroblastos dérmicos humanos [Vandermeeren y otros, *J. Invest. Dermatol.*, 116: 124-130, (2001)]. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de interferir en la secreción de IL-8 en células dérmicas son útiles como agentes antipsoriasis.

En otra realización, el compuesto o compuestos de la tabla I son para su utilización en un método para tratar artritis reumatoide y trastornos inflamatorios relacionados. La artritis reumatoide, que afecta aproximadamente al 1% de la población, es una enfermedad multisistémica crónica de causa desconocida, caracterizada por sinovitis inflamatoria persistente, principalmente en articulaciones periféricas simétricas [Lipsky, *Rheumatoid arthritis*, *Harrisons Principles of Internal Medicine*, 15^a edición (eds, Braunwald y otros) McGraw-Hill, Pubs., Nueva York págs. 1929-1937, (2001)]. Los altos niveles basales de IL-8 se descubren en el líquido sinovial y en células sinoviales [Troughton y otros, *Br J. Rheumatol.*, 35: 1244-51, (1996); y Hayashida y otros, *Arthritis Res.*, 3: 118-26, (2001)]. Se ha propuesto que la IL-8 participa en lesiones sinoviales en las fases más tempranas de la enfermedad reumatoide [Takahashi y otros, *Tohoku J. Exp. Med.*, 188: 75-87, (1999)], y que los síntomas coinciden con síntesis aumentada de IL-8 [Kraan y

otros, *Arthritis Res.*, 3: 65-71, (2001)]. La síntesis de IL-8 mediante la entrada de monocitos periféricos por atracción sinovial [Hayashida y otros, *Arthritis Res.*, 3: 118-26, (2001)], así como angiogénesis, posiblemente para soportar el estado inflamatorio crónico [Koch y otros, *Arthritis Rheum.*, 44: 31-40 (2001)]. El mecanismo de la síntesis de IL-8 por células sinoviales implica la ruta de NF κ B (Morel y otros, *Lab Invest.*, 81: 1371-83, (2001)) y aumentos de ARNm de IL-8. Algunas categorías más de artritis también se caracterizan por altos niveles de IL-8, incluyendo enfermedad de Behcet [Ertenli y otros, *Clin Exp. Rheumatol Suppl.*, 24: S37-41 (2001)], psoriasis [Konig y otros, *Rheumatol Int.*, 17: (1)59-68, (1997)]. La terapia de artritis reumatoide mediante metotrexato [Gao y otros, *Z Rheumatol*, 57: 95-100, (1998)] o aurotioglucosa [Yoshida y otros, *Int. Immunol.*, 11: 151-8, (1999)] da como resultado la reducción de los niveles de IL-8 en las articulaciones afectadas. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención capaces de interferir en la secreción de IL-8 en tejidos sinoviales son útiles como compuestos terapéuticos para su utilización en un método para tratar tipos reumatoides de artritis relacionada con IL-8.

“Farmacogenómica”, tal como se utiliza en el presente documento, incluye la aplicación de tecnologías genómicas tales como secuenciación génica, genética estadística y análisis de la expresión génica a fármacos en desarrollo clínico y en el mercado. Más específicamente, el término se refiere al estudio de cómo los genes de un sujeto determinan su respuesta a un fármaco (por ejemplo, el “fenotipo de respuesta a un fármaco” o “genotipo de respuesta a un fármaco” de un sujeto). Por lo tanto, otro aspecto de la presente invención da a conocer compuestos de la presente invención para su utilización en métodos para tratamiento profiláctico o terapéutico, en los que dicho tratamiento es a medida para un individuo según la respuesta al fármaco de ese individuo. La farmacogenómica permite a un médico o facultativo dirigir tratamientos profilácticos o terapéuticos a sujetos que se beneficiarán más del tratamiento y evitar el tratamiento de sujetos que experimentarán efectos secundarios relacionados con fármacos tóxicos.

En un aspecto, la presente invención da a conocer uno o más compuestos de la presente invención para su utilización en un método para prevenir a un mamífero en enfermedades asociadas con expresión o actividad aberrante de IL-8. La administración del compuesto o compuestos puede producirse antes de la manifestación de síntomas característicos de la sobreexpresión de IL-8, de modo que se previene la enfermedad o, como alternativa, se retarda su avance.

La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” tal como se utiliza en el presente documento, es esa cantidad que alcanza, como mínimo, parcialmente un efecto terapéutico o profiláctico deseado en un órgano o tejido. La cantidad de un compuesto de piridinio necesaria para provocar el tratamiento de prevención y/o terapéutico de enfermedades o trastornos relacionados con IL-8 no está fijada *per se*. Una cantidad eficaz depende necesariamente de la identidad y la forma de compuesto empleado, el grado de protección necesaria, o la gravedad de las enfermedades o afecciones relacionadas con IL-8 a tratar.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a métodos de modulación de la expresión o actividad de IL-8 con fines terapéuticos. Por consiguiente, en una realización ejemplar, el método modulador de la presente invención implica poner en contacto a una célula con un compuesto, tal como MSR2481, que inhibe la secreción de IL-8.

Junto con el tratamiento profiláctico o terapéutico, puede considerarse la farmacogenómica (es decir, el estudio de la relación entre el genotipo de un individuo y la respuesta de ese individuo a un compuesto o fármaco extraño). Las diferencias en el metabolismo de los compuestos terapéuticos pueden conducir a toxicidad grave o fallo terapéutico alterando la relación entre la dosis y la concentración en sangre del fármaco farmacológicamente activo. Por lo tanto, un facultativo o médico puede considerar aplicar el conocimiento obtenido en estudios farmacogenómicos relevantes para determinar si administra un compuesto así como personalizar el régimen de dosificación y/o terapéutico de tratamiento con un compuesto.

La farmacogenómica trata de variaciones hereditarias clínicamente significativas en la respuesta a fármacos debido a la disposición de fármaco alterada y la acción anormal en personas afectadas. En general, pueden diferenciarse dos tipos de afecciones farmacogenéticas. Afecciones genéticas transmitidas como un único factor que altera la manera en la que los fármacos actúan sobre el cuerpo (acción del fármaco alterada) o afecciones genéticas transmitidas como factores únicos que alteran la manera en la que el cuerpo actúa sobre los fármacos (metabolismo del fármaco alterado). Estas afecciones farmacogenéticas pueden producirse como defectos genéticos raros o como polimorfismos de origen natural. Por ejemplo, la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es una enzimopatía heredada común en la que la principal complicación clínica es hemólisis después de la ingestión de fármacos oxidantes (antimalariales, sulfonamidas, analgésicos, nitrofuranos) y el consumo de habas verdes.

Una estrategia farmacogenómica para identificar genes que predicen la respuesta a fármacos, conocida como una “asociación amplia del genoma”, depende principalmente en un mapa de alta resolución del genoma humano constituido por sitios relacionados con genes ya conocidos (por ejemplo, un mapa marcador génico “bialélico” que está constituido por 60.000-100.000 sitios polimórficos o variables en el genoma humano, cada uno de los cuales tiene dos variantes). Dicho mapa genético de alta resolución puede compararse con un mapa del genoma de cada uno de un número estadísticamente sustancial de sujetos que toman parte en un ensayo de fármacos de Fase II/III para identificar genes asociados con una respuesta a fármacos o un efecto secundario de los mismos observados particulares. Como alternativa, dicho mapa de alta resolución puede generarse a partir de una combinación de

aproximadamente diez millones de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) conocidos en el genoma humano. Tal como se utiliza en el presente documento, un "SNP" es una alteración común que se produce en una base de un solo nucleótido en un tramo de ADN. Por ejemplo, un SNP puede producirse una vez cada 1000 bases de ADN. Un SNP puede estar implicado en un proceso de enfermedad. Sin embargo, la gran mayoría de SNP pueden no estar asociados a una enfermedad. Dado un mapa genético basado en la aparición de dichos SNP, los individuos pueden agruparse en categorías genéticas dependiendo de un patrón particular de SNP en su genoma individual. De esta manera, pueden diseñarse a medida regímenes de tratamiento para grupos de individuos genéticamente similares, teniendo en cuenta rasgos que pueden ser comunes entre dichos individuos genéticamente similares. De este modo, el mapeado de los compuestos de piridinio anfífilos de la presente invención en mapas de SNP de pacientes puede permitir una identificación más fácil de estos genes, según los métodos genéticos descritos en el presente documento.

Como alternativa, un método denominado la "estrategia del gen candidato", puede utilizarse para identificar genes que predican la respuesta a un fármaco. Según este método, si se conoce un gen que codifica un fármaco diana (por ejemplo, gen de IL-8), todas las variantes comunes de ese gen pueden identificarse de forma bastante fácil en la población y puede determinarse si tener una versión del gen frente a otra está asociado con una respuesta a fármaco particular.

Como realización ilustrativa, la actividad de enzimas que metabolizan fármacos es un determinante fundamental tanto de la intensidad como de la duración de la acción de un fármaco. El descubrimiento de polimorfismos genéticos de enzimas que metabolizan fármacos (por ejemplo, N-acetiltransferasa 2 (NAT 2) y enzimas del citocromo P450 CYP2D6 y CYP2C19) ha dado a conocer una explicación sobre el porqué de que algunos sujetos no obtengan los efectos del fármaco esperados o muestran una respuesta al fármaco exagerada y toxicidad grave después de tomar la dosis estándar y segura de un fármaco. Estos polimorfismos se expresan en dos fenotipos en la población, el metabolizador rápido y el metabolizador lento. La prevalencia de fenotipos de metabolizador lento es diferente entre poblaciones diferentes. Por ejemplo, el gen que codifica CYP2D6 es altamente polimórfico y se han identificado varias mutaciones en metabolizadores lentos, que conducen todas a la ausencia de CYP2D6 funcional. Los metabolizadores lentos de CYP2D6 y CYP2C 19 de forma bastante frecuente experimentan respuesta al fármaco exagerada y efectos secundarios cuando reciben dosis estándar. Si un metabolito es el resto terapéutico activo, los metabolizadores lentos no muestran ninguna respuesta terapéutica, según se demuestra para el efecto analgésico de codeína mediado por su metabolito formado por CYP2D6, morfina. El otro extremo son los llamados metabolizadores ultra-rápidos que no responden a dosis estándar. Recientemente, se ha identificado que la base molecular de los metabolizadores ultra-rápidos se debe a la amplificación del gen de CYP2D6.

Como alternativa, un método denominado el "perfilado de la expresión génica" puede utilizarse para identificar genes que predican la respuesta a un fármaco. Por ejemplo, la expresión génica de un animal al que se ha administrado una dosis de un fármaco (por ejemplo, secreción de IL-8 en respuesta a un compuesto de piridinio anfífilo de la presente invención) puede proporcionar una indicación de si se han activado rutas génicas relacionadas con toxicidad.

La información generada a partir de más de una de las anteriores estrategias farmacogenómicas puede utilizarse para determinar regímenes de dosificación y de tratamiento apropiados para tratamiento profiláctico o terapéutico de un individuo. Este conocimiento, cuando se aplica a la dosificación o la selección de un fármaco, puede evitar reacciones adversas o fallo terapéutico y, por lo tanto, mejorar la eficiencia terapéutica o profiláctica cuando se trata a un mamífero con un compuesto de piridinio anfífilo.

La presente invención se refiere, además, a composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuesto o compuestos de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Tal como se utiliza en el presente documento la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" pretende incluir todos y cada uno de disolventes, solubilizantes, cargas, estabilizantes, aglutinantes, absorbentes, bases, agentes tamponantes, lubricantes, vehículos de liberación controlada, diluyentes, agentes emulsionantes, humectantes, lubricantes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos o antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares, compatibles con la administración farmacéutica. La utilización de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Excepto en la medida en que cualesquiera medios o agente convencionales sean incompatibles con el compuesto activo, se contempla su utilización en las composiciones. También pueden incorporarse agentes suplementarios a las composiciones.

Una composición farmacéutica de la presente invención se formula para ser compatible con su vía de administración pretendida. Los ejemplos de vías de administración incluyen parenteral, por ejemplo, administración intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (tópica), transmucosal y rectal. Las soluciones o suspensiones utilizadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijados, polietilenglicoles, glicerina; propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfato sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de tonicidad

tales como cloruro sódico o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiple hechos de vidrio o plástico.

5 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para utilización inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando sean solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición inyectable debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que
10 exista una fácil introducción en la jeringa. Ésta debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe estar preservada frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante la utilización de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el
15 mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante la utilización de surfactantes. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferente incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro sódico en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede proporcionarse
20 incluyendo en la composición un agente que retarda la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Pueden prepararse soluciones inyectables estériles incorporando el compuesto activo (por ejemplo, un fragmento de un CRTP o un anticuerpo anti-CRTP) en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una
25 combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido por esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los demás ingredientes requeridos de entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferentes son secado al vacío y liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución de los mismos, previamente filtrada estéril.
30

Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Éstas pueden estar encerradas en cápsulas de gelatina o comprimidas en comprimidos. Con el fin de administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y utilizarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas.
35 Las composiciones orales también pueden prepararse utilizando un vehículo fluido para su utilización como enjuague bucal, en el que el compuesto en el vehículo fluido se aplica por vía oral y es enjuagado y expectorado o tragado. Pueden incluirse agentes aglutinantes y/o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa; un agente disgregante tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Stertes; un glidante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja.
40

45 Para administración por inhalación, los compuestos se administran en forma de un pulverizado en aerosol a partir de un recipiente o dispensador presurizado que contiene un propelente adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

La administración sistémica también puede ser por medios transmucosales o transdérmicos. Para administración transmucosal o transdérmica, se utilizan agentes de penetración apropiados para la barrera a atravesar en la formulación. Dichos agentes de penetración se conocen generalmente en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosal, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosal puede conseguirse mediante la utilización de pulverizadores nasales o supositorios. Para administración transdérmica, los compuestos bioactivos se formulan en pomadas, bálsamos, geles o cremas tal
50 como se conoce generalmente en la técnica.
55

Los compuestos también pueden prepararse en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para administración rectal.

60 En una realización, los restos terapéuticos, que pueden contener un compuesto bioactivo, se preparan con vehículos que protegerán al compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tales como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden utilizarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los especialistas en la técnica. Los materiales también pueden obtenerse en el mercado por ejemplo de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Suspensiones liposomales (que incluyen liposomas dirigidos a células
65

infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) también pueden utilizarse como vehículos farmacéuticamente aceptables.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma de dosificación unitaria para la facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La forma de dosificación unitaria, tal como se utiliza en el presente documento incluye unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitaria de la presente invención viene dictada por y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular a conseguir, y las limitaciones inherentes en la técnica de mezclado de dicho compuesto activo para el tratamiento de individuos.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos compuestos pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL50 (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La proporción de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la proporción DL50/DE50. Los compuestos que muestran grandes índices terapéuticos son preferentes. Aunque pueden utilizarse compuestos que muestran efectos secundarios tóxicos, hay que tener cuidado de diseñar un sistema de administración que dirija dichos compuestos al sitio de tejido afectado para minimizar el daño potencial a células no afectadas y, de este modo, reducir los efectos secundarios.

Los datos obtenidos a partir de los ensayos de cultivo celular y estudios animales pueden utilizarse en la formulación de una gama de dosificación para su utilización en seres humanos. La dosificación de dichos compuestos está preferentemente en un intervalo de concentraciones circulantes que incluye la DE50 con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar en este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier compuesto utilizado en el método de la presente invención, la dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Puede formularse una dosis en modelos animales para conseguir un intervalo de concentración en plasma circulante que incluye la CI50 (es decir, la concentración del compuesto de ensayo que consigue la mitad de la inhibición máxima de los síntomas) según lo determinado en cultivo celular. Dicha información puede utilizarse para determinar, de forma más precisa, dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que no deben interpretarse como limitantes. El contenido de todas las referencias, patentes y solicitudes de patente publicadas mencionadas en toda la presente solicitud, así como las figuras y tablas se incorporan en el presente documento como referencia.

EJEMPLO 1: Identificación de sales de piridinio anfífilas que suprimen la secreción de IL-8 en células epiteliales de pulmón con FQ IB-3

1(a). Células y métodos de cultivo

Las células epiteliales de pulmón con FQ IB3 y S9 han sido descritas previamente [Zeitlin y otros, 1991; Eidelman y otros, 2001a)]. Se cultivaron células tanto IB2 como S9 en medio LHC-8 sin suero (Biofluids), formulado sin gentamicina. Las células epiteliales traqueales con FQ (2CFTE29o-) se obtuvieron de la Universidad de Vermont. Estas últimas células se cultivaron en EMEM (Biofluids), suplementado con suero fetal bovino al 10% (FBS) y Penicilina G-Estreptomicina al 1%.

1(b). Condiciones por defecto y controles para paradigma de cribado

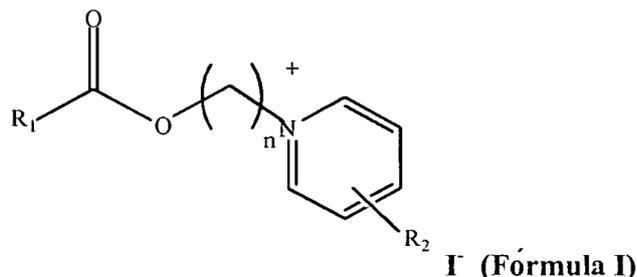
Los ensayos iniciales para los efectos del fármaco en el paradigma de cribado se realizaron por duplicado a concentraciones de 10, 3, 1 y 0,3 μM en células IB-3 cultivadas en placas de microvaloración de 96 pocillos. Cada placa individual contenía células IB-3 e IB-3/S9 para establecer las condiciones límite del ensayo. Se incluyeron CPX y DAX, 5 μM cada uno, en pocillos diferentes como controles positivos. Se seleccionaron "golpes" en el tamiz en base, como mínimo, a una reducción del 50% de la secreción constitutiva de IL-8. Después de un ensayo repetido positivo, los compuestos candidatos se tomaron "fuera de línea" para un análisis más detallado en las mismas condiciones de ensayo exactas. Muchos de los compuestos que se cribaron necesitan disolventes tales como DMSO o etanol para la solubilidad inicial. En la mayoría de las circunstancias se utiliza una concentración final máxima de disolvente del 0,1% de DMSO o el 0,01% de ETOH. Concentraciones más altas de DMSO suprimen sustancialmente la secreción de IL-8. El control de disolvente, que a la concentración tomada se desvía mínimamente del medio solo, se utiliza a continuación como base para una actividad al 100%.

1(c). Detección de fluidos de cultivo de IL-8 a partir de muestras de cribado

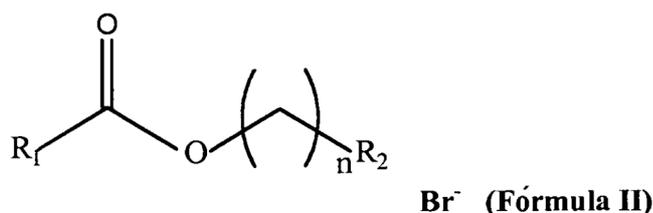
Los detalles de este ensayo se han descrito en una publicación anterior (Eidelman y otros., 2001a). En resumen, se cultivan células IB-3 en placas de microvaloración de 96 pocillos al 80% de confluencia. Se añaden fármacos,

5 diluidos en medio LHC-8 a las concentraciones dadas, y se deja incubar a las células durante 24 horas adicionales. Para iniciar el experimento, se lavan las células con medio LHC-8 recién preparado, y a continuación se incuban durante 16 horas adicionales en el mismo medio suplementado con el fármaco. Al final del periodo de tiempo, las soluciones de sobrenadante se recogen y se ensayan para IL-8 mediante un ensayo ELISA. Como alternativa, las muestras se congelan inmediatamente a -80°C. No se han observado diferencias cuantitativas cuando ambos paradigmas se aplicaron a la misma muestra manipulada de cualquier manera. El ensayo ELISA de IL-8 se reunió a partir de materiales a granel adquiridos de R&D, y se realizó exactamente según las especificaciones de los fabricantes. Para detectar posible toxicidad del fármaco sobre las células, así como normalizar con respecto a las células totales por pocillo, se midió el contenido de ADN de cadena doble de células fijadas a la placa después de la retirada de las soluciones sobrenadantes para el ensayo de IL-8. Las células que quedan en la placa se fijan a continuación con formalina al 10% durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de incubarlas con yoduro de propidio (kit de Boehringer Mannheim). El contenido de yoduro de propidio en cada pocillo se mide a continuación con un lector de placas de fluorescencia automatizado (FLUOstar Optima, MBG Lab Technologies). Los datos finales de IL-8 se calculan como una proporción de IL-8 secretado con respecto a ADN para cada pocillo. Ocasionalmente, también se llevan a cabo ensayos de proliferación celular utilizando el ensayo XTT (Roche).

20 A partir del cribado de bibliotecas, se identifican una serie de sales de piridinio anfífilas que suprimían la secreción de IL-8 espontáneamente elevada en células epiteliales de pulmón con FQ IB-3. Los datos representativos se muestran en las figuras 1 y 2 (en ambas figuras, JH son las células IB-3 no tratadas). Los valores de CI_{50} se dan en la tabla 3 a continuación. Tabla 3. Estructuras y potencias de compuestos de piridinio como inhibidores de la secreción de IL-8 a partir de células IB-3 con FQ.

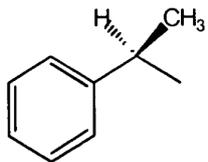
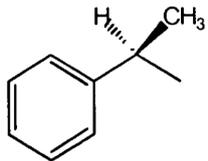
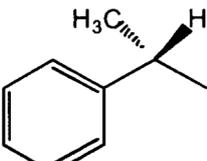
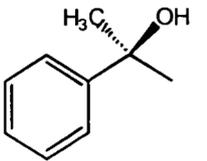
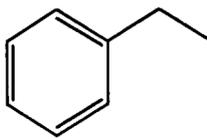
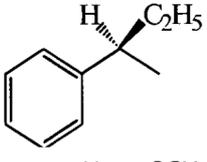
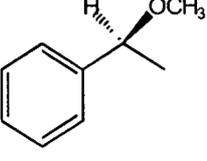
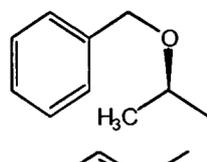
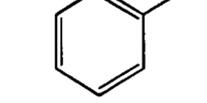
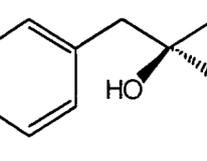
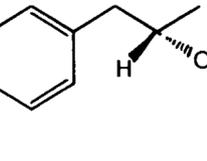


25 **Compuestos 1 - 19**



30 **Compuestos 20 - 22**

| Compuesto | R ₁ | n | R ₂ | CI ₅₀ |
|---------------|----------------|---|----------------|------------------|
| 1 MRS 2572 | | 4 | H | >30 |
| 2 MRS 2573 | | 6 | H | >30 |

| Compuesto | R ₁ | n | R ₂ | CI ₅₀ |
|----------------|---|----|----------------|------------------|
| 3 MRS 2481 |  | 8 | H | 0,35 ± 0,1 |
| 4 MRS 2574 |  | 10 | H | 2,52 ± 0,39 |
| 5 MRS 2485 |  | 8 | H | >25 |
| 6 MRS 2515 |  | 8 | H | >30 |
| 7 MRS 2480 |  | 8 | H | 12 ± 0,8 |
| 8 MRS 2591 |  | 8 | H | 3,16 ± 0,52 |
| 9 MRS 2506 |  | 8 | H | >30 |
| 10 MRS 2507 |  | 8 | H | >30 |
| 11 MRS 2513 |  | 8 | H | >30 |
| 12 MRS 2514 |  | 8 | H | >30 |
| 13 MRS 2516 |  | 8 | H | >30 |

| Compuesto | R ₁ | n | R ₂ | CI ₅₀ |
|----------------|----------------|---|---------------------|------------------|
| 14 MRS 2590 | | 8 | H | ND |
| 15 MRS 2390 | | 8 | H | 2,2 ± 0,8 |
| 16 MRS 2517 | | 8 | H | 4,6 ± 0,9 |
| 17 MRS 2518 | | 8 | H | >30 |
| 18 MRS 2589 | | 8 | 3-CONH ₂ | 5,56 ± 0,98 |
| 19 MRS 2421 | | 8 | | 3,3 ± 0,5 |
| 20 MRS 2423 | | 8 | | 18 ± 0,9 |
| 21 MRS 2422 | | 8 | | 24 ± 1,0 |
| 22 MRS 2391 | | 8 | | > 30 |

La relación estructura-actividad sigue un patrón preciso. El mecanismo implica, como mínimo, una interacción específica con una molécula diana (es decir un "receptor" macromolecular). Dependiendo de cambios estructurales secundarios, las potencias pueden variar entre inactiva e activa a una concentración submicromolar.

Los compuestos sintetizados son derivados anfífilos, constituidos por un resto éster hidrófobo y un resto de piridinio hidrófilo unido a través de una cadena alquilo de 4 a 10 carbonos (1- 4). Entre estos compuestos, el Compuesto 3, un éster del ácido (R)-1-fenilpropiónico, mostraba la inhibición más fuerte a la secreción de IL-8 con una CI_{50} de 0,35 μ M. Un resto hidrófobo presente en los derivados de piridinio mostraba requisitos estructurales altamente específicos en la supresión de la producción de IL-8.

El enantiómero del Compuesto 3, el Compuesto 5, era mucho menos activo en efecto sobre la producción de IL-8. Por lo tanto, existe una estereoselectividad de acción de >70 veces a favor del isómero (R). Esto es característico de la unión a un sitio específico en una macromolécula. La sustitución del metilo-hidrógeno del Compuesto 5 por un grupo hidroxilo, que conduce al Compuesto 6, no consiguió restaurar la actividad. La longitud de la cadena n-alquilo puede variar. La retirada del grupo α -metilo del análogo más potente (es decir, que da como resultado el Compuesto 7), retirando de este modo el centro quiral de la molécula, condujo a una pérdida de potencia de 34 veces. La sustitución de este grupo metilo por metoxi eliminaba la actividad (Compuesto 8). La isomerización del grupo éster en la posición α del Compuesto 3, que dio como resultado el Compuesto 11, redujo significativamente la actividad del Compuesto 3. La estereoselectividad de los efectos de dos derivados enantioméricos de 1-hidroxi-2-feniletilo (Compuesto 12 y Compuesto 13) no pudo ser evaluada, dado que no era evidente ninguna actividad. La sustitución en la posición p del anillo fenilo con un grupo alquilo ramificado, el Compuesto 15 dio como resultado una pérdida de potencia de 6 veces. La sustitución de la posición p del anillo de fenilo en dos derivados racémicos indicaba que la introducción de un grupo uretano en el Compuesto 16 era posible con la retención de la actividad, mientras que el pequeño grupo p-amino hidrófilo en el Compuesto 17 eliminaba la actividad.

La adición de un p-sustituyente del resto de piridinio del Compuesto 15 condujo a la retención de la potencia (etilo) o una pérdida de potencia de 8 veces (2-hidroxietilo) con respecto al Compuesto 13. El resto de piridinio podía sustituirse por un resto de N-metilmorfolino (Compuesto 21) con solamente una pérdida de potencia de 11 veces, mientras que la sustitución por un resto sin cambios idéntico al lado éster de la molécula para dar una estructura dimérica (Compuesto 22) eliminaba la actividad. Por lo tanto, la actividad está asociada con la presencia de un grupo amonio cargado positivamente.

EJEMPLO 2: Síntesis de sales de piridinio representativas

2 (a). Materiales e instrumentación

Los reactivos y disolventes se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Los espectros de 1H RMN se obtuvieron con un espectrómetro Varian Gemini-3000 (300 MHz) con D_2O , $CDCl_3$, CD_3OD , y $DMSO-d_6$ como disolvente. Los desplazamientos químicos se expresaron como ppm a campo más bajo a partir de TMS. La pureza de los compuestos se comprobó con un aparato de HPLC Hewlett-Packard 1090 equipado con una columna analítica SMT OD-5-60 RP-C18 (250 x 4.6 mm; Separation Methods Technologies, Inc., Newark, DE) en dos sistemas de disolvente.

Sistema A: sistema disolvente de gradiente lineal: TEAA 0,1 M/ CH_3CN de 95/5 a 40/60 en 20 min.; el caudal era de 1 ml/min.

Sistema B: sistema disolvente de gradiente lineal: TBAP 5 mM/ CH_3CN de 80/20 a 40/60 en 20 min.; el caudal era de 1 ml/min.

El análisis de TLC se llevó a cabo en láminas de aluminio recubiertas previamente con gel de sílice F_{254} (0,2 mm) de Aldrich. 2 (b) Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 1-14 y 16-18:

(i) Síntesis de α -metil-2-fenilacetato de R-8-Bromo-n-octilo

Ácido R-(-)-2-fenilpropiónico (210 mg, 1,4 mmol) y 1,8 di-Bromo-octano (0,26 ml, 1,4 mmol) se introdujeron en un matraz de fondo redondo de 5 cc con una solución metanólica de hidróxido de benciltrimetilamonio (0,635 ml, 40%). Se añadió yoduro de tetrabutilamonio (mg 14, 0,038 mmol) y la mezcla se agitó durante 3 días. La mezcla se vertió en agua (30 ml), y la solución acuosa se extrajo con acetato de etilo (10 ml x3). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El residuo se purificó utilizando cromatografía en capa fina preparativa (gel de sílice, eluyendo con éter de petróleo: acetato de etilo, 20:1) obteniendo 181 mg de α -metil-2-fenilacetato de R-8-Bromo-n-octilo (rendimiento del 38%).

1RMN ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7,34-7,24 (m, 5H), 4,05 (t, J = 6,3 HZ, 2H), 3,70 (c, J = 6,9 Hz), 3,41 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 1,90-1,80 (m, 1H), 1,56-1,37 (m, 7H), 1,35-1,20 (m, 6H).

(ii) Síntesis de α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-yodo-*n*-octilo

Se disolvió α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-bromo-*n*-octilo, (200 mg, 0,58 mmol) en acetona (5 ml) y se añadió NaI (mg 90, mmol 10,6). La mezcla se agitó a T.A. durante una noche. El disolvente se concentró y se añadió agua (20 ml), y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (10 ml x 3). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 se filtró y se concentró. El producto era lo suficientemente puro para utilizarlo sin purificación adicional.

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7,32-7,24 (m, 5H), 4,05 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 3,70 (c, J = 6,9 Hz), 3,18 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 1,84-1,79 (m, 1H), 1,56-1,37 (m, 7H), 1,35-1,23 (m, 6H).

(iii) Síntesis de yoduro de α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-piridinio-*n*-octilo (Compuesto 3)

Se disolvió α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-yodo-*n*-octilo (100 mg, 0,26 mmol) en acetona (10 ml) y se añadió piridina (0,3 ml). La solución se agitó a 50°C durante tres días. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en agua (20 ml). La fase acuosa se lavó con éter (10 x 3) y se liofilizó para dar 54 mg de Compuesto 3 puro (rendimiento del 45%).

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,80 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,09 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,45-7,31 (m, 5H), 4,53 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,19-4,05 (m, 2H), 3,88 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 1,94-1,88 (m, 2H), 1,61-1,56 (m, 2H), 1,49-1,42 (m, 7H), 1,27-1,23 (m, 4H).

(iv) Síntesis de yoduro de α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-piridinio-*n*-butilo (Compuesto 1)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,67 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,07 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,43-7,31 (m, 5H), 4,45 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,29-4,09 (m, 2H), 3,90 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 1,92-1,82 (m, 2H), 1,72-1,65 (m, 2H), 1,49 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

(v) Síntesis de yoduro de α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-piridinio-*n*-hexilo (Compuesto 2)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,81 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,08 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,45-7,30 (m, 5H), 4,3 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,21-4,12 (m, 2H), 3,89 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 1,94-1,86 (m, 2H), 1,62-1,55 (m, 2H), 1,48 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,27-1,22 (m, 4H).

(vi) Síntesis de yoduro de α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-piridinio-*n*-decilo (Compuesto 4)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,89-8,87 (m, 2H), 8,61-8,57 (m, 1H), 8,11-8,07 (m, 2H), 7,33-7,14 (m, 5H), 4,69-4,55 (m, 2H), 4,09-3,92 (m, 2H), 3,66 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 2,02-1,92 (m, 2H), 1,49-1,08 (m, 17H).

(vii) Síntesis de yoduro de α -metil-2-fenilacetato *S*-8-piridinio-*n*-octilo (Compuesto 5)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,80 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,09 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,45-7,31 (m, 5H), 4,53 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,19-4,05 (m, 2H), 2,88 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 1,94-1,88 (m, 2H), 1,61-1,56 (m, 2H), 1,49-1,42 (m, 7H), 1,27-1,23 (m, 4H).

(viii) Síntesis de yoduro de α -hidroxi- α -metil-2-fenilacetato de *R*-8-piridinio-*n*-octilo (Compuesto 6)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,84 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,56 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,08 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,57-7,39 (m, 5H), 4,60 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,15 (t, J = 4,2 Hz, 2H), 2,02-1,96 (m, 2H), 1,83 (s, 3HO), 1,59-1,55 (m, 2H), 1,24-1,17 (m, 8H).

(ix) Síntesis de yoduro de acetato de 8-piridinio-*n*-octilo (Compuesto 7)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,88 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,66 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,14 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,47-7,38 (m, 5H), 4,55 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,25 (t, J = 4,2 Hz, 2H), 3,85 (s, 2H), 2,12-1,98 (m, 2H), 1,56-1,37 (m, 4H), 1,30-1,19 (m, 6H).

(x) Síntesis de yoduro de α -etil-2-fenilacetato de *R*-8-piridinio-*n*-octilo (Compuesto 8)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 9,31 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,49 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,10 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,31-7,22 (m, 5H), 4,39 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,06-4,01 (m, 2H), 3,48-3,41 (m, 1H), 2,11-1,90 (m, 3H), 1,84-1,74 (m, 1H), 1,61-1,46 (m, 4H), 1,32-1,20 (m, 6H), 0,89 (t, J = 7,2 Hz, 2H).

(xi) Síntesis de yoduro de α -metoxi-2-fenilacetato de S-8-piridinio-n-octilo (Compuesto 9)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,82 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J-9 Hz, 1H), 8,09 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,48-7,42 (m, 5H), 4,59 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,29-4,10 (m, 3H), 3,41 (s, 3H), 2,02-1,88 (m, 2H), 1,61-1,52 (m, 2H), 1,29-1,12 (m, 8H).

(xii) Síntesis de yoduro de α -benciloxi-2-propionato de S-8-piridinio-n-octilo (Compuesto 10)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,81 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J-9 Hz, 1H), 8,07 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,45-7,40 (m, 5H), 4,62-4,58 (m, 4H), 4,25 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 4,18 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,02-1,94 (m, 2H), 1,72-1,60 (m, 2H), 1,40 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,38-1,26 (m, 8H).

(xiii) Síntesis de yoduro de benzoato de 8-piridinio-n-octilo (Compuesto 11)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,81 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,51 (t, J-9 Hz, 1H), 8,03 (m, 4H), 7,65-7,55 (m, 1H), 7,56-7,51 (m, 2H), 4,59-4,55 (m, 2H), 4,34 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,05 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 2,02-1,94 (m, 2H), 1,78-1,74 (m, 2H), 1,62-1,26 (m, 8H).

(xiv) Síntesis de yoduro de 2-hidroxi-3-fenilpropionato de R-8-piridinio-n-octilo (Compuesto 12) y yoduro de 2-hidroxi-3-fenilpropionato de S-8-piridinio-n-octilo (Compuesto 13)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,80 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J-9 Hz, 1H), 8,09 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,38-7,22 (m, 5H), 4,65 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,44 (c, J = 6,8 Hz, 1H), 4,14 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,18-3,02 (m, 2H), 1,95-1,82 (m, 2H), 1,69-1,62 (m, 2H), 1,45-1,15 (m, 8H).

(xv) Síntesis de yoduro de α -metil-2-[4-(N-Boc amino)fenil]acetato de 8-piridinio-n-octilo (Compuesto 16)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,82 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J-9 Hz, 1H), 8,08 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,38-7,31 (m, 4H), 4,63 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,29-4,20 (m, 1H), 4,18-4,02 (m, 1H), 3,88 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 1,98-1,88 (m, 2H), 1,61-1,56 (m, 13H), 1,27-1,23 (m, 9H).

(xvi) Síntesis de yoduro de α -metil-2-[4-amoniufenil]acetato de 8-piridinio-n-octilo (Compuesto 17)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 8,85 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,57 (t, J-9 Hz, 1H), 8,08 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,49-7,35 (m, 4H), 4,62 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,14 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,95 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 1,98-1,88 (m, 2H), 1,61-1,49 (m, 5H), 1,31-1,25 (m, 8H).

(xvii) Síntesis de yoduro de α -metil-2-(4-[2-metilpropil])acetato de 8-(3-carboxiamido-piridinio)-n-octilo (Compuesto 18)

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 10,21 (s, 1H), 9,16 (d, J-9 Hz, 1H), 8,98 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,58 (s, 1H), 8,19 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,21-7,08 (m, 4H), 6,53 (s, 1H), 4,88 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,07-4,03 (m, 2H), 3,70 (c, J = 6,8 Hz, 1H), 2,44 (d, J = 9 Hz, 2H), 2,18-2,02 (m, 2H), 1,85-1,72 (m, 5H), 1,57-1,26 (m, 9H), 0,89 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

2 (c). Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 15 y 19-22(i) Síntesis de S,S-1,8-di((α -metil 2-(4-[2-metilpropil]fenil)acetoxi)-n-octano (Compuesto 22)

Se combinaron ácido S- α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acético (Aldrich Chemical Co., 206 mg, 1 mmol), 1,8-dibromooctano (Aldrich Chemical Co., 0,184 ml). Se añadió una solución metanólica de metóxido de benciltrietilamonio (453 mg, 40%) y yoduro de tetrabutilamonio (10 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. El producto (HS III-93B, 167 mg., 0,42 mmol, 42% de rendimiento) se aisló utilizando cromatografía en capa fina preparativa (gel de sílice, eluyendo con hexanos:acetato de etilo, 20:1). Un producto secundario, una molécula dimérica (HS III-93C), también se aisló (34 mg, 7%).

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7,20 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 3,70 (c, J = 6,9 Hz), 2,45 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 1,89-1,80 (m, 1H), 1,57-1,48 (m, 5H), 1,26-1,20 (m, 4H), 0,90 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

(ii) Síntesis de yoduro de α -metil-1-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-piridinio-n-octilo (Compuesto 15)

Se disolvieron α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-bromo-n-octilo (35 mg, 0,088 mmol) y piridina (0,2 ml, 2,5 mmol) en acetona (3 ml). Se añadió yoduro de tetrabutilamonio (10 mg), y la mezcla se agitó durante 2 días a 50°C. La acetona se retiró al vacío. El producto (HS IV-3, 16 mg, 0,035 mmol, 40% de rendimiento) se aisló utilizando cromatografía en capa fina preparativa (gel de sílice, eluyendo con cloroformo:metano, 5:1).

^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 0,02 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 8,59 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,09 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,19 (d, J = 7,

8 Hz, 2H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,62 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,10-4,01 (m, 2H), 3,70 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 2,45 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 2,03-1,98 (m, 2H), 1,87-1,78 (m, 1H), 1,59-1,51 (m, 2H), 1,43 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,33-1,25 (m, 8H), 0,90 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

5 (iii) Síntesis de bromuro de α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-(4-*n*-propilpiridinio)-*n*-octilo (Compuesto 19)

10 Se disolvieron α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-bromo-*n*-octilo (35 mg, 0,088 mmol) y 4-*n*-propilpiridina (0,2 ml) en acetona (3 ml). Se añadió yoduro de tetrabutilamonio (5 mg), y la mezcla se agitó durante 2 días a 50°C. La acetona se retiró al vacío. El producto (HS IV-3, 16 mg, 0,028 mmol, 35% de rendimiento) se aisló utilizando cromatografía en capa fina preparativa (gel de sílice, eluyendo con cloroformo:metanol, 5:1).

15 ¹HRMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 9,32 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 7,84 (d, J = 6,3 Hz, 2H), 7,19 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,91 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,02 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,70 (c, J = 6,9 Hz, 1H), 3,39-3,34 (m, 2H), 2,86 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,45 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 2,03-1,98 (m, 2H), 1,87-1,64 (m, 3H), 1,56-1,30 (m, 5H), 1,33-1,25 (m, 8H), 1,01 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 0,90 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

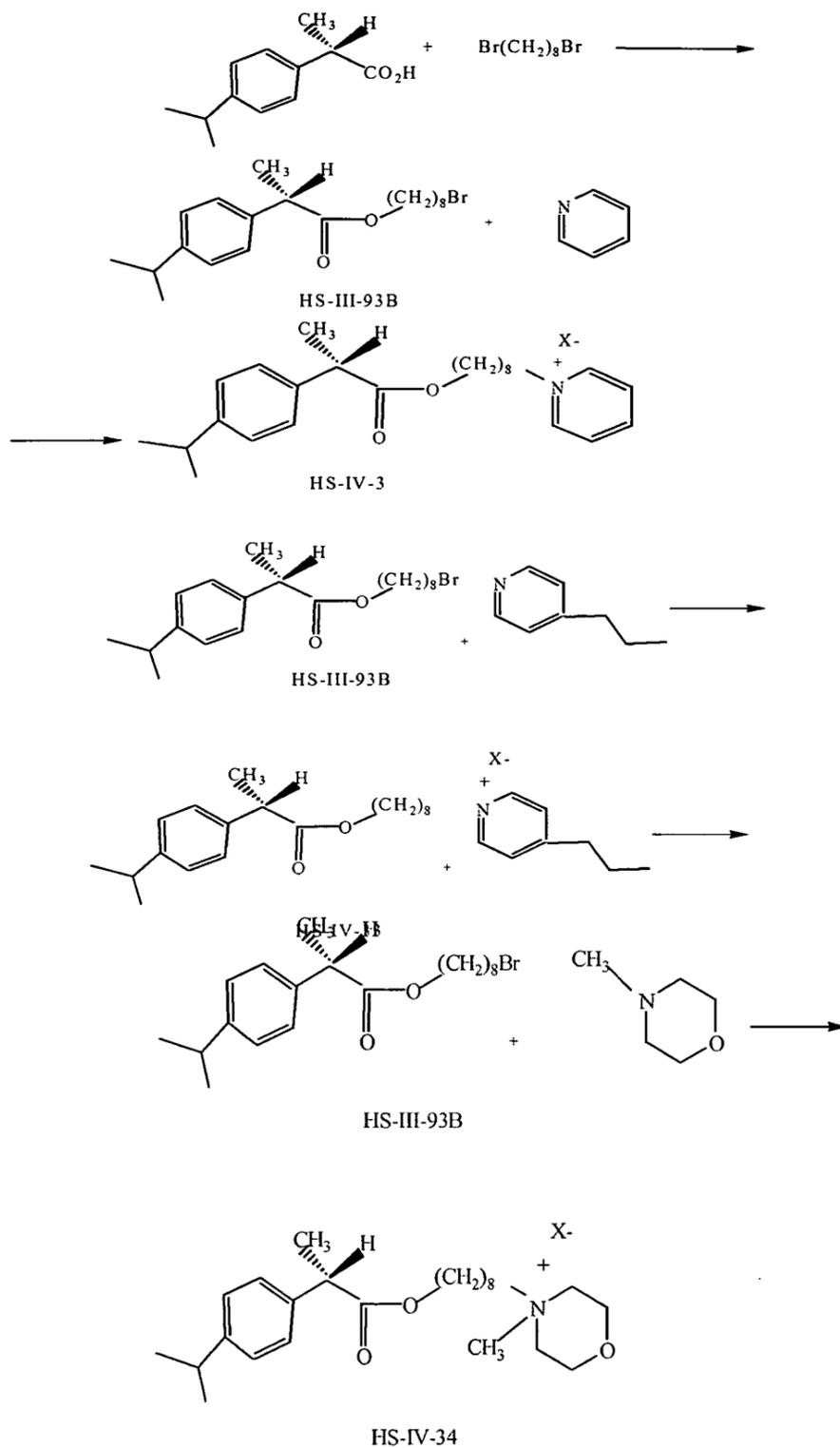
20 (iv) Síntesis de bromuro de α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-(4-2-hidroxi-etil)piridinio)-*n*-octilo (Compuesto 20)

¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ 8,86 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 7,98 (d, J = 6,3 Hz, 2H), 7,19 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,69 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,05-3,92 (m, 3H), 4,62-4,59 (m, 1H), 3,19-3,10 (m, 2H), 2,86 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 2,45 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 2,03-1,98 (m, 2H), 1,49-1,25 (m, 14H), 0,90 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

25 (v.) Síntesis de bromuro de α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-[N-netilmorfolinio)-*n*-octilo (Compuesto 21)

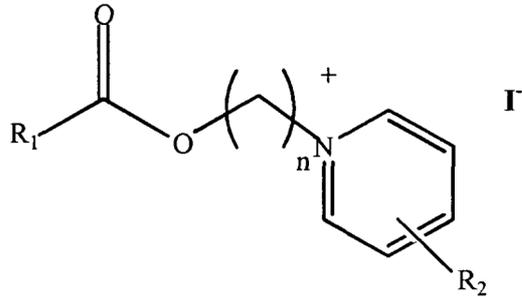
30 ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,19 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,13-3,98 (m, 6H), 3,89-3,78 (m, 4H), 3,71-3,55 (m, 6H), 3,40-3,24 (m, 2H), 2,45 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 1,86-1,26 (m, 13H), 1,02 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 0,90 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

Los ejemplos de las etapas sintéticas de ilustran de la siguiente manera:



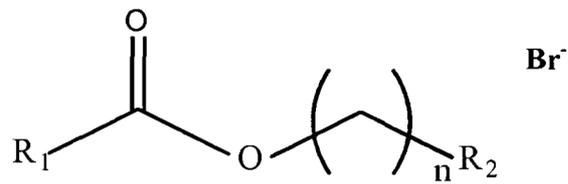
REIVINDICACIONES

1. Compuesto que tiene una estructura de fórmula I



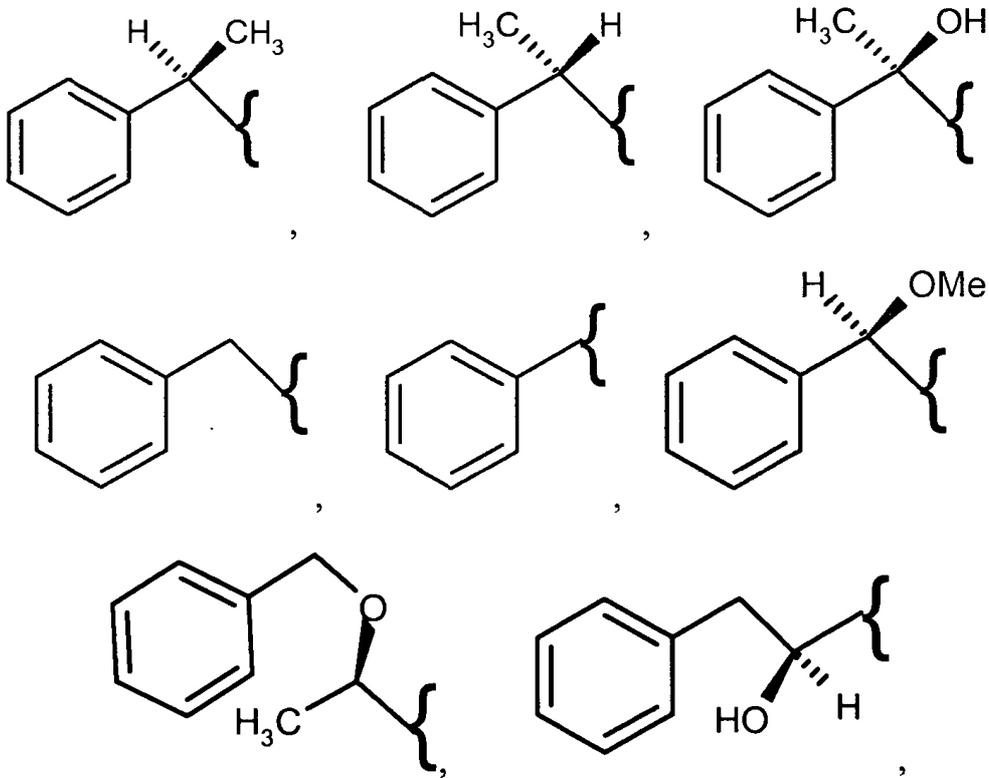
5

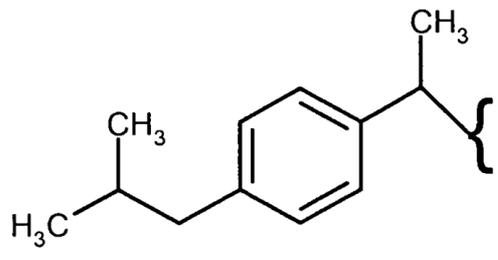
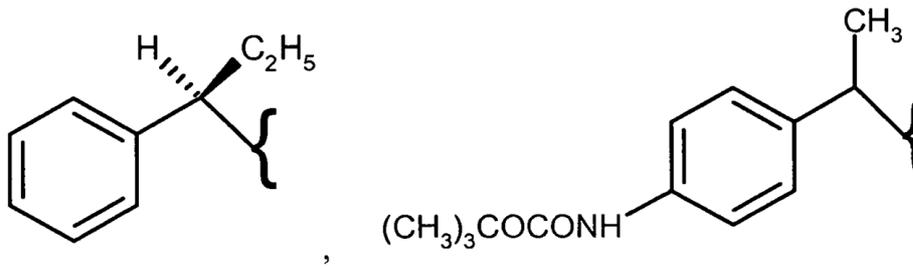
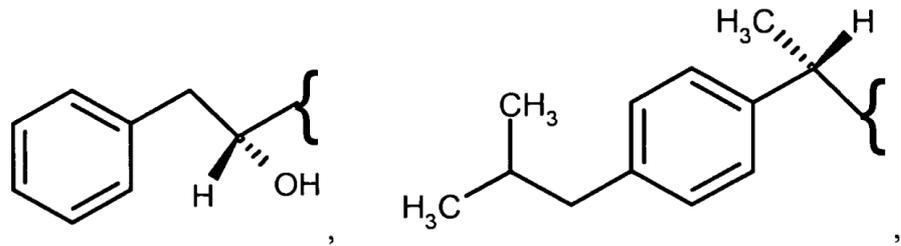
o fórmula II



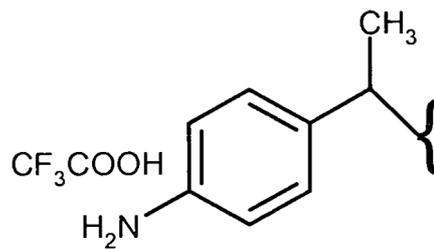
10

en el que en dicha fórmula I, R₁ se selecciona entre el grupo que comprende:



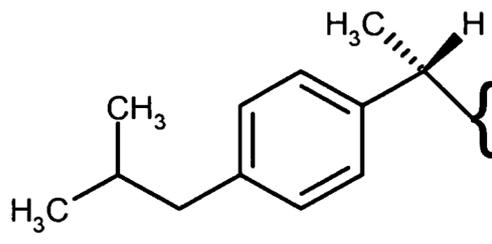


y



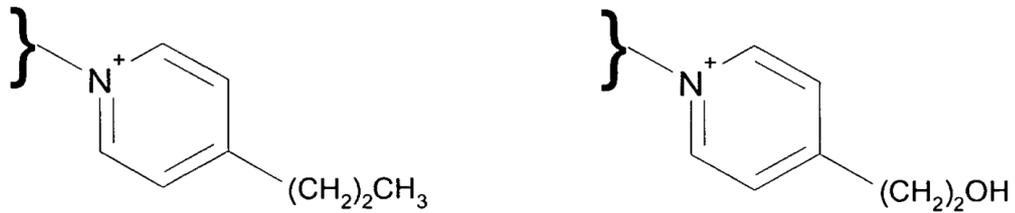
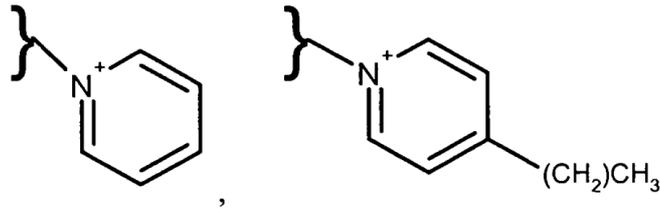
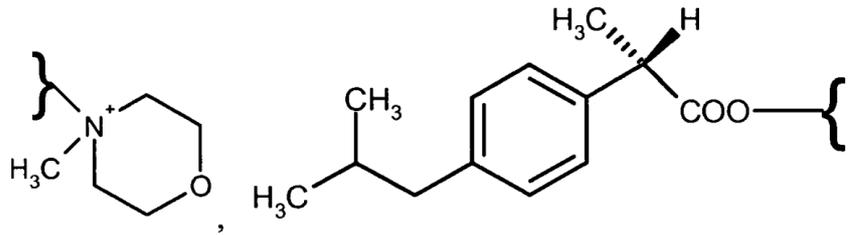
5

R₂ se selecciona entre el grupo que comprende H y 3-CONH₂, y n es un número entero entre 8 y 10; en el que en dicha fórmula II, R₁ es



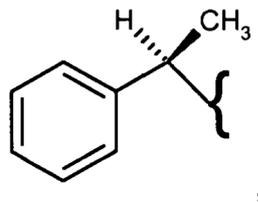
10

R₂ se selecciona entre el grupo que comprende:



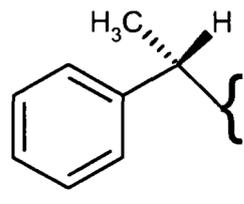
y n es un número entero que vale 8.

- 5 2. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R_1 es



- 10 R_2 es H, y n es 8.

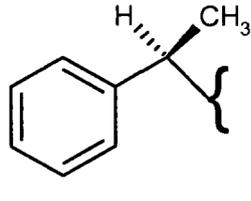
3. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R_1 es



15

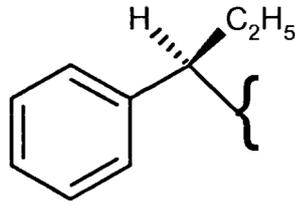
R_2 es H, y n es 8.

- 20 4. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R_1 es



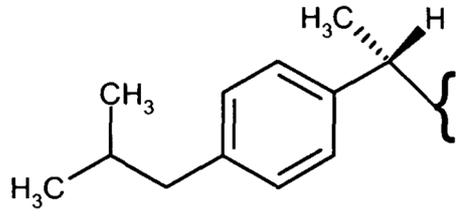
R₂ es H, y n es 10.

5. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R₁ es



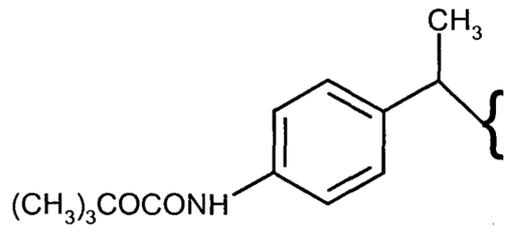
R₂ es H, y n es 8.

6. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R₁ es



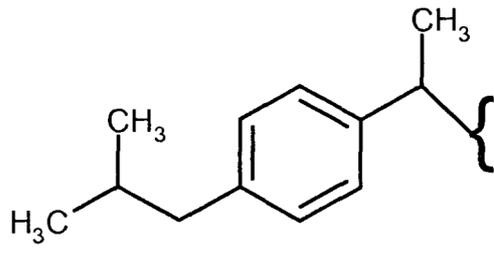
R₂ es H, y n es 8.

7. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R₁ es



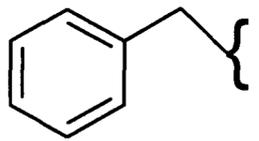
R₂ es H, y n es 8.

8. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R₁ es



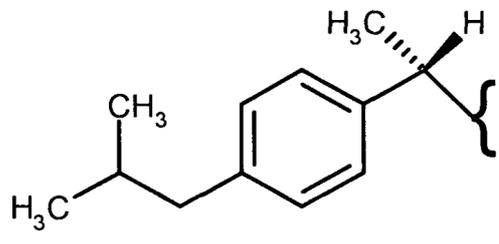
R₂ es 3-CONH₂, y n es 8.

- 5 9. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula I, y en el que R₁ es



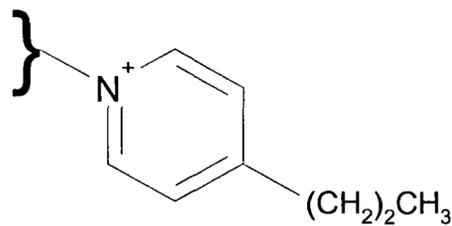
- 10 R₂ es H, y n es 8.

10. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula II, y en el que R₁ es



15

R₂ es

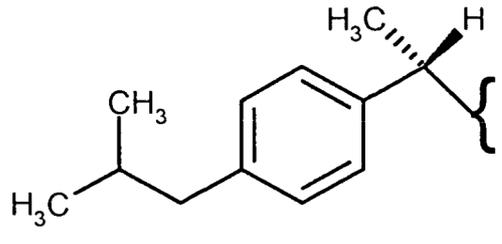


20

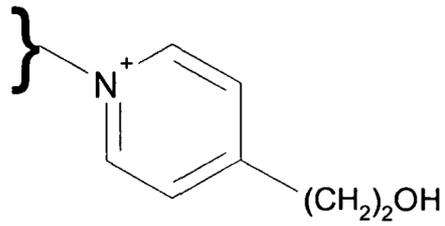
y n es 8.

11. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la estructura de fórmula II, y en el que R₁ es

25



R₂ es

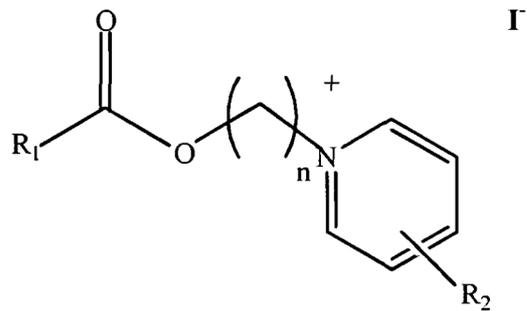


5

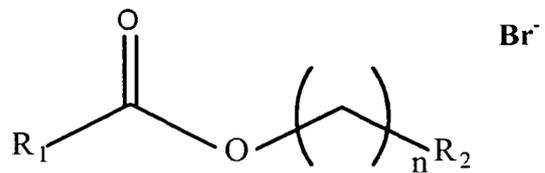
y n es 8.

12. Compuesto, según la reivindicación 1, que tiene una estructura de fórmula I

10

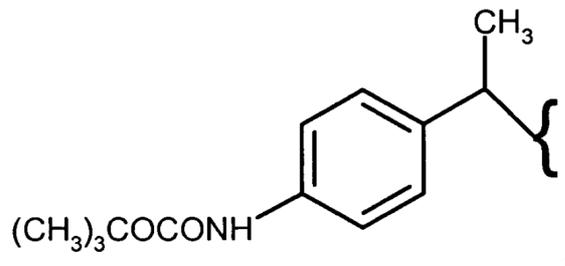
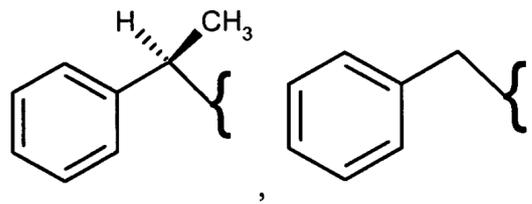
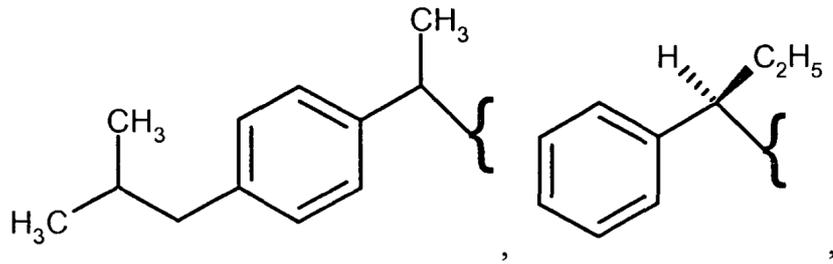


o fórmula II

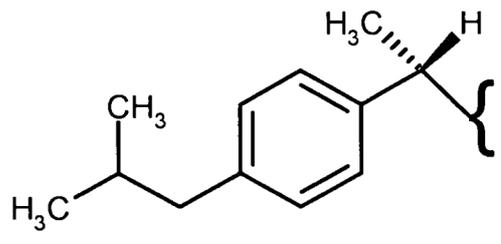


15

en el que en dicha fórmula I, R₁ se selecciona entre el grupo que comprende:

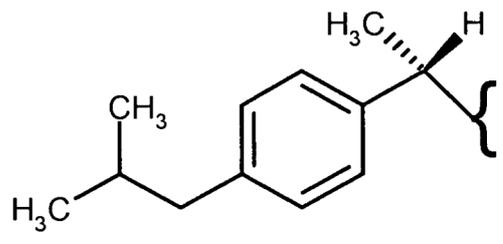


y



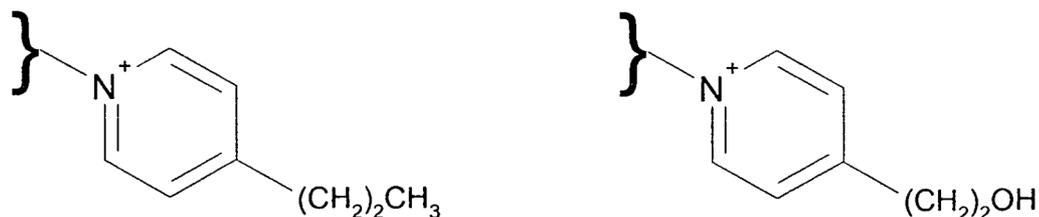
5

R_2 se selecciona entre el grupo que comprende H y 3- CONH_2 , y n es un número entero entre 8 y 10; en el que en dicha fórmula II, R_1 es



10

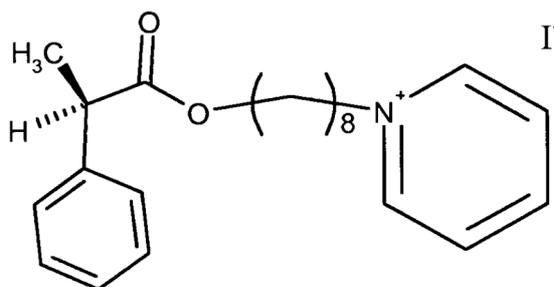
R_2 se selecciona entre el grupo que comprende



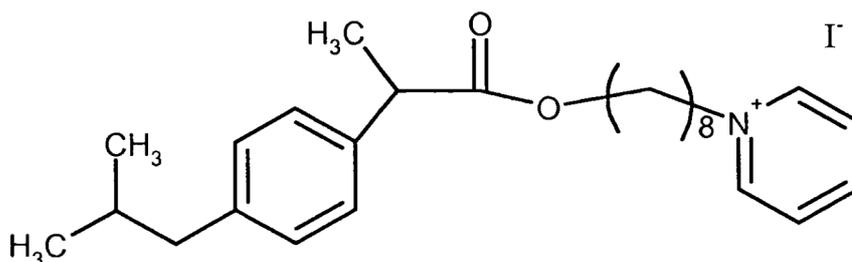
y n es un número entero que vale 8.

5 13. Composición farmacéutica para tratar una enfermedad o afección relacionada con IL-8, que comprende dichos compuestos, según las reivindicaciones 1 a 12, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicha enfermedad o afección relacionada con IL-8 se selecciona entre el grupo que comprende fibrosis quística, operaciones de circulación extracorpórea, parada cardiorrespiratoria, enfermedad intestinal inflamatoria, aterosclerosis, lesiones térmicas, lesiones provocadas por un ácido, inhalación de humo, edema pulmonar por reexpansión, lesión cerebral traumática, apoplejía, diabetes, rechazo de injerto en trasplante, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, infecciones víricas tales como VIH, cáncer, fiebres resistentes a inhibidores de ciclooxigenasa, artritis reumatoide y trastornos inflamatorios relacionados.

10 14. Composición farmacéutica, según la reivindicación 13, en la que dicho compuesto es



15 15. Composición farmacéutica, según la reivindicación 13, en la que dicho compuesto es



20 16. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización en un método para tratar una enfermedad o afección relacionada con IL-8 en un mamífero, en el que dicha enfermedad o afección relacionada con IL-8 se selecciona entre el grupo que comprende fibrosis quística, operaciones de circulación extracorpórea, parada cardiorrespiratoria, enfermedad intestinal inflamatoria, aterosclerosis, lesiones térmicas, lesiones provocadas por un ácido, inhalación de humo, edema pulmonar por reexpansión, lesión cerebral traumática, apoplejía, diabetes, rechazo de injerto en trasplante, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, infecciones víricas tales como VIH, cáncer, fiebres resistentes a inhibidores de ciclooxigenasa, artritis reumatoide y trastornos inflamatorios relacionados.

25 17. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 16, en la que dicha enfermedad relacionada con IL-8 es fibrosis quística.

30 18. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 16, en la que dicha composición farmacéutica es administrada por vía oral.

35

19. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 16, en la que dicha composición farmacéutica es administrada por vía intravascular.

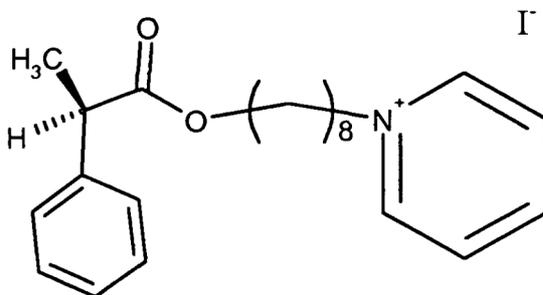
5 20. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 16, en la que dicha composición farmacéutica es administrada por vía intramuscular.

21. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 16, en la que dicha composición farmacéutica es administrada por vía subcutánea.

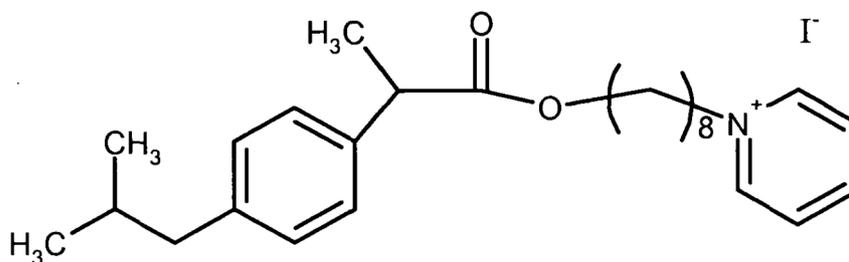
10 22. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 16, en la que dicha composición farmacéutica es administrada por vía intraperitoneal.

23. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización en un método para inhibir la secreción de IL-8 en una célula de mamífero.

15 24. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 23, en la que dicha composición farmacéutica comprende el compuesto

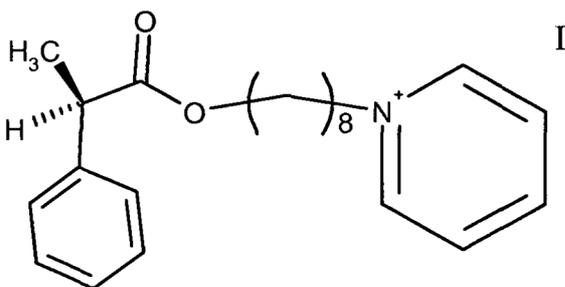


20 o



25 25. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización, según la reivindicación 23, en la que dicha célula de mamífero es una célula epitelial de pulmón con FQ.

26. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto que tiene una estructura



30 y un vehículo farmacéuticamente aceptable para su utilización en un método para tratar fibrosis quística en un mamífero.

27. Composición farmacéutica, según la reivindicación 26, para su utilización en un método para tratar fibrosis quística en un mamífero, en el que dicha composición farmacéutica es administrada por vía oral.

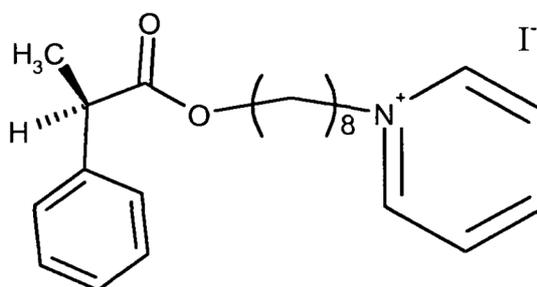
5 28. Composición farmacéutica, según la reivindicación 26, para su utilización en un método para tratar fibrosis quística en un mamífero, en el que dicha composición farmacéutica es administrada por vía intravascular.

29. Composición farmacéutica, según la reivindicación 26, para su utilización en un método para tratar fibrosis quística en un mamífero, en el que dicha composición farmacéutica es administrada por vía intramuscular.

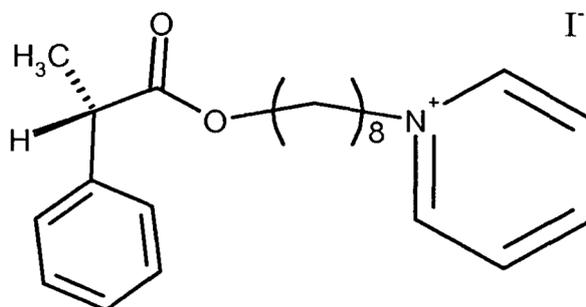
10 30. Composición farmacéutica, según la reivindicación 26, para su utilización en un método para tratar fibrosis quística en un mamífero, en el que dicha composición farmacéutica es administrada por vía subcutánea.

31. Composición farmacéutica, según las reivindicaciones 13 a 15, para su utilización en un método para tratar enfermedad de Alzheimer en un mamífero.

15 32. Composición farmacéutica, según la reivindicación 31, para su utilización en un método para tratar enfermedad de Alzheimer en un mamífero, en la que dicha composición farmacéutica comprende el compuesto



20 o



25 33. Método de preparación del compuesto, según la reivindicación 6, que comprende las etapas de:
 disolver α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-bromo-*n*-octilo y piridina en acetona;
 añadir yoduro de tetrabutilamonio para formar una mezcla de reacción;
 agitar la mezcla de reacción durante 2 días a 50°C, y
 retirar la acetona.

30 34. Método de preparación del compuesto, según la reivindicación 10, que comprende las etapas de:
 disolver α -metil-2-(4-[2-metilpropil]benceno)acetato de S-8-bromo-*n*-octilo y 4-*n*-propilpiridina en acetona;
 añadir yoduro de tetrabutilamonio para formar una mezcla de reacción;
 agitar la mezcla de reacción durante 2 días a 50°C, y
 retirar la acetona.

35

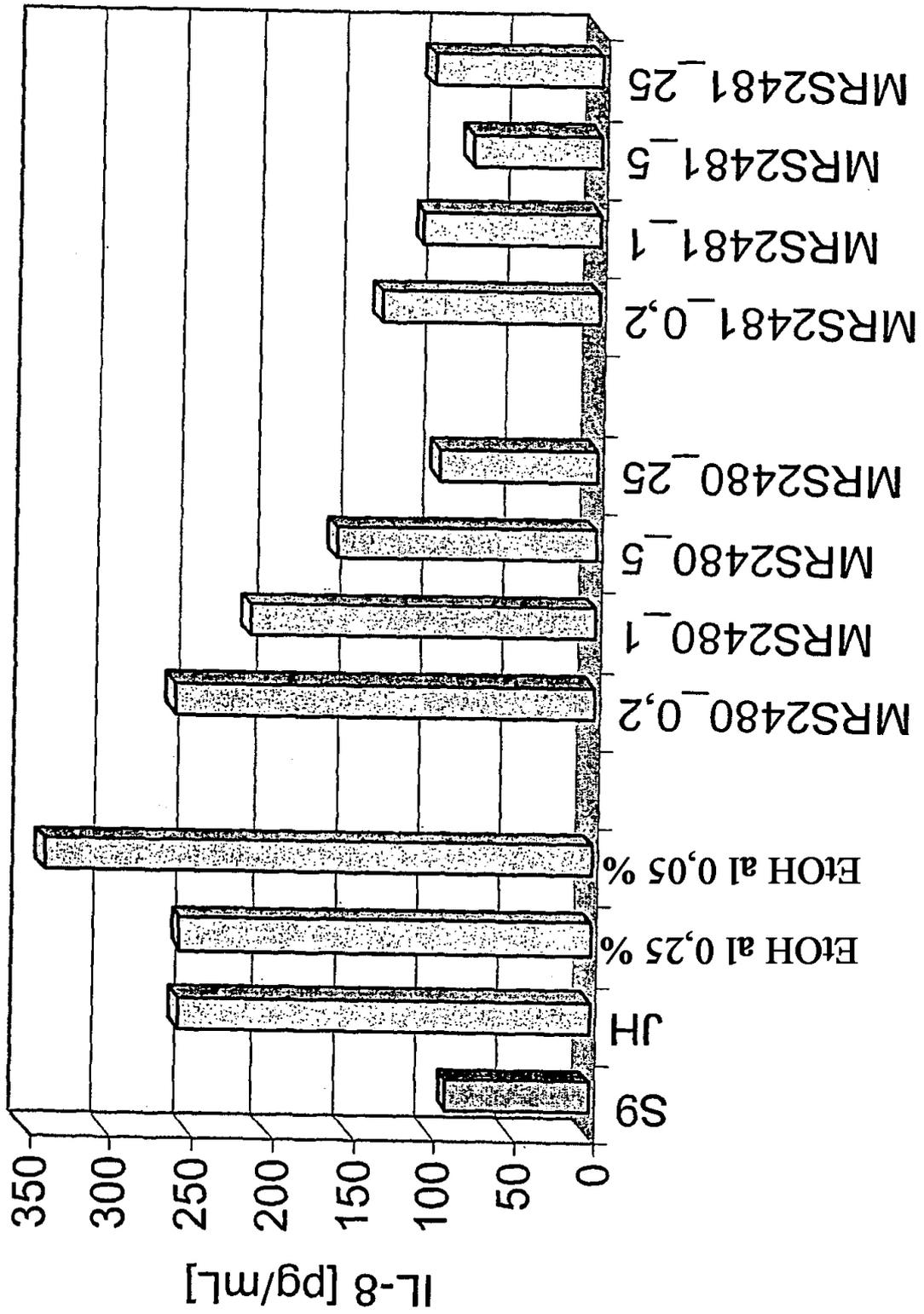


FIG. 1

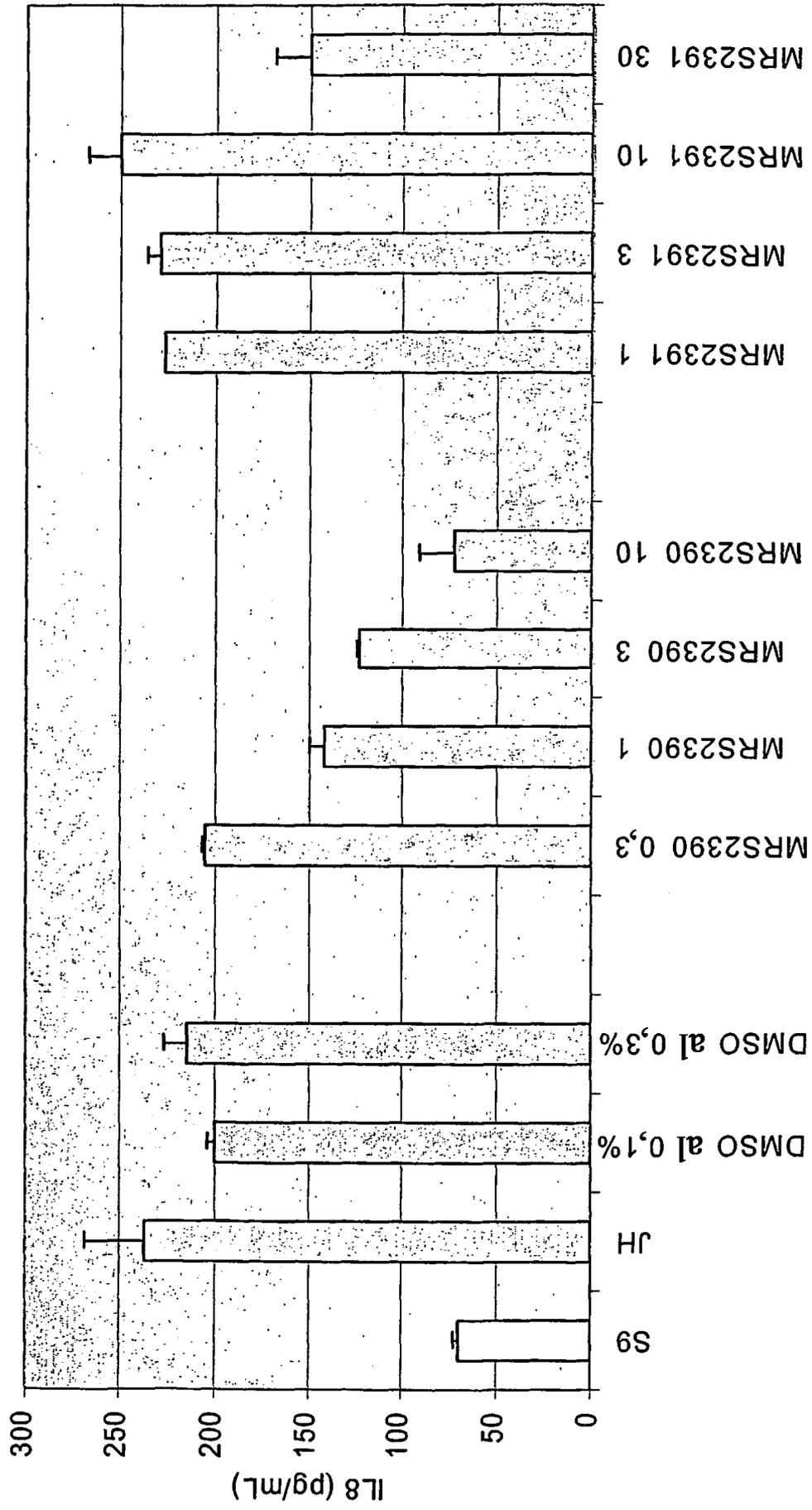


FIG. 2