

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 419 164**

51 Int. Cl.:

A61K 31/05	(2006.01) A61P 1/00	(2006.01)
A61K 31/085	(2006.01) A61P 11/06	(2006.01)
A61K 31/09	(2006.01) A61P 31/00	(2006.01)
A61K 31/7028	(2006.01)	
A61K 31/135	(2006.01)	
A61K 31/70	(2006.01)	
A61K 31/704	(2006.01)	
A61P 37/02	(2006.01)	
A61P 29/00	(2006.01)	
A61P 37/06	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2002 E 09002359 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2013 EP 2060255**

54 Título: **Composiciones para la prevención y el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, y rechazo de trasplante**

30 Prioridad:

02.11.2001 US 336759 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.08.2013

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 5th Floor
Oakland, CA 94607 , US**

72 Inventor/es:

DAVID, MICHAEL I.

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 419 164 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones para la prevención y el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, y rechazo de trasplante.

5

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se define en las reivindicaciones y se refiere a composiciones y su utilización en la reducción de uno o más síntomas de una enfermedad inflamatoria mediante la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto purificado con la Fórmula A como se define en las reivindicaciones. Los usos médicos de la invención son para la prevención, mejora, y tratamiento de una enfermedad inflamatoria que es sepsis o asma.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

[0002] Las enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, y el rechazo de trasplantes ejercen una carga personal y económica devastadora. La enfermedad inflamatoria se produce cuando se inicia una respuesta inflamatoria que es inadecuada y/o no se resuelve de una manera normal sino que persiste y produce un estado inflamatorio crónico. Los ejemplos de algunas de las enfermedades inflamatorias más comunes y problemáticas son las sepsis, choque séptico, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino (EII), psoriasis, asma, enfisema, colitis y lesiones por isquemia-reperfusion. En particular, la sepsis, que es una respuesta inflamatoria sistémica a la infección, produce un fallo multiorgánico a través de la coagulación intravascular diseminada (CID). En esta enfermedad, los procesos de auto-amplificación contribuyen a acelerar más las anomalías de la coagulación, la inflamación, y las lesiones endoteliales. La sepsis da lugar a 700.000 hospitalizaciones aproximadamente, de las cuales el 45% evolucionan a choque séptico que dan lugar a 100.000 muertes, lo que hace del choque séptico la décima causa de muerte en EE.UU.

20

25

[0003] Para controlar la sepsis se han intentado diversos enfoques que incluyen antisuero anti-LPS, antisuero anti-CD14, antisuero anti-TNF α o receptor soluble de TNF α , antisuero anti-IL1 o antagonista de IL1-R, antagonista de PAF, IL-10, inhibidores de la vía del factor tisular, glucocorticoides, fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE) e inhibidores del óxido de nitrógeno (NO). Sin embargo, ninguno de estos enfoques ha proporcionado resultados beneficiosos significativos en ensayos clínicos en seres humanos si hay sepsis.

30

[0004] El documento WO 99/59561 A desvela el resveratrol y el piceatanol para su utilización en el tratamiento de un estado patológico que comprende infiltración de neutrófilos y liberación de mieloperoxidasa (MPO).

35

[0005] El documento FR-A-2 778 337 desvela derivados de estilbeno tales como resveratrol y piceatanol para su uso en el tratamiento de dermatitis, diabetes y acné.

40

[0006] El documento WO 01/42231 A desvela una serie de compuestos de estilbeno tales como 3,5-dihidroxi-4-isopropil estilbeno para su uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y enfermedades inflamatorias.

45

[0007] El documento WO 01/34138 A desvela el compuesto resveratrol para su utilización en el tratamiento de cáncer, inflamación y enfermedad de Alzheimer.

[0008] El documento WO 01/30336 A desvela formulaciones farmacéuticas que comprenden resveratrol para su uso en el tratamiento de la psoriasis y la dermatitis de contacto alérgica.

50

[0009] Freya Wolter y col., Drugs of the Future, vol. 27, nº 10, octubre de 2002, páginas 949-959, "Biological activities of resveratrol and its analogs" desvela el resveratrol y compuestos de estilbeno relacionados para su uso en el tratamiento de la inflamación y enfermedades alérgicas.

55

[0010] El documento WO 02/14252 A desvela una serie de compuestos de estilbeno como para la Fórmula A genérica que se pueden utilizar para el tratamiento de la diabetes y la sepsis.

60

[0011] Fai Tsang y col., Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 293, nº 1, 26. Abril de 2002, páginas 72-78, "Inhibitors of the tyrosine kinase signalling cascade attenuated thrombin-induced guinea pig airway smooth muscle cell proliferation" desvela la inhibición *in vitro* de la proliferación de células ASM con el inhibidor de Syk piceatanol.

[0012] Así, aún existe la necesidad de composiciones y procedimientos para la prevención y tratamiento de una enfermedad inflamatoria que es sepsis o asma.

65

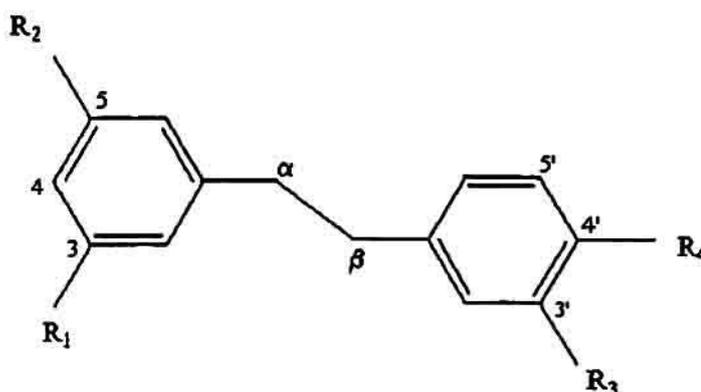
RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0013] la invención se define en las reivindicaciones y proporciona composiciones y su utilización para la prevención y tratamiento de una enfermedad inflamatoria que es sepsis o asma.

5 [0014] La invención proporciona un compuesto purificado seleccionado del grupo constituido por 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno, 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno, y 3,4',5-trimetoxi-estilbeno para uso en el tratamiento de la sepsis.

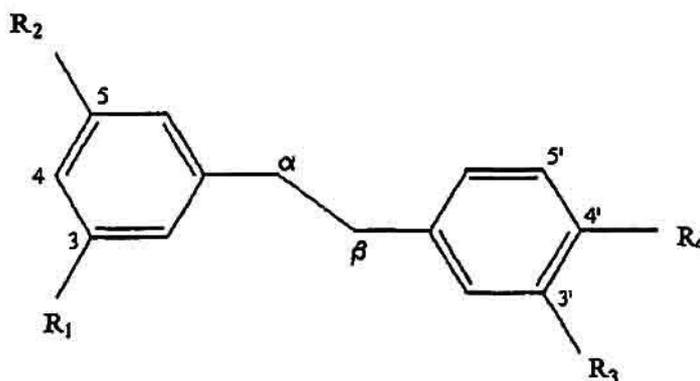
10 [0015] La invención proporciona además un compuesto purificado seleccionado del grupo constituido por piceatanol, 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno, 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno para su uso en el tratamiento del asma.

[0016] En una forma de realización, la invención proporciona un compuesto para su uso en la reducción de uno o más síntomas de una enfermedad inflamatoria que es la sepsis o el asma, dicho uso que comprende la administración a un sujeto de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto purificado que tiene la siguiente estructura de la Fórmula A



20 en la que: cada uno de R₁, R₂, R₃ y R₄ es -OH, y el compuesto es piceatanol. En otra alternativa, cada uno de R₁, R₂, R₃ y R₄ es -OCH₃, y el compuesto es 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno. En una alternativa adicional, cada uno de R₁, R₂, R₃, y R₄ es -OCH₂-CH₃, y el compuesto es 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno. En una alternativa adicional, cada uno de R₁, R₂ y R₄ es -OCH₃, R₃ es -H, y el compuesto es 3,3',4',5-trimetoxi-estilbeno. En otra forma de realización, el compuesto es piceatanol o 3,4',5-tetrametoxi-estilbeno.

25 [0017] La invención proporciona además compuestos para su uso en la reducción de uno o más síntomas de una dolencia seleccionada entre la sepsis y el asma, dicho uso que comprende la administración a un sujeto de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto purificado que tiene la siguiente estructura de Fórmula A,



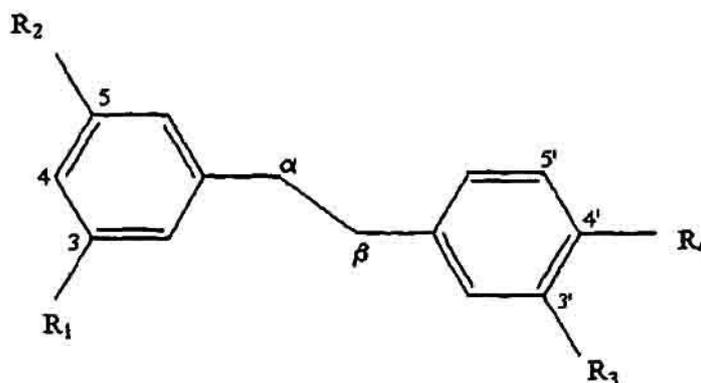
30 en la que: cada uno de R₁, R₂, R₃ y R₄ es -OH, y el compuesto es piceatanol. En otra alternativa, cada uno de R₁, R₂, R₃, y R₄ es -OCH₃, y el compuesto es 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno. En una alternativa adicional, cada uno de R₁, R₂, R₃, y R₄ es -OCH₂-CH₃, y el compuesto es 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno. En una alternativa adicional, cada uno de R₁, R₂ y R₄ es -OCH₃, R₃ es -H, y el compuesto es 3,4',5-trimetoxi-estilbeno.

35 En una forma de realización, el sujeto es un ser humano. En otra forma de realización, el sujeto es un ratón. En aún otra forma de realización, el sujeto es un cánido. En una forma de realización preferida, el compuesto es piceatanol

o 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno. En una forma de realización, la administración se realiza por vía parenteral, oral, intraperitoneal, o intranasal. En otra forma de realización, la administración se realiza antes de la manifestación de uno o más síntomas de la sepsis, simultáneamente con la manifestación de uno o más síntomas de la sepsis, y/o después de la manifestación de uno o más síntomas de la sepsis.

5

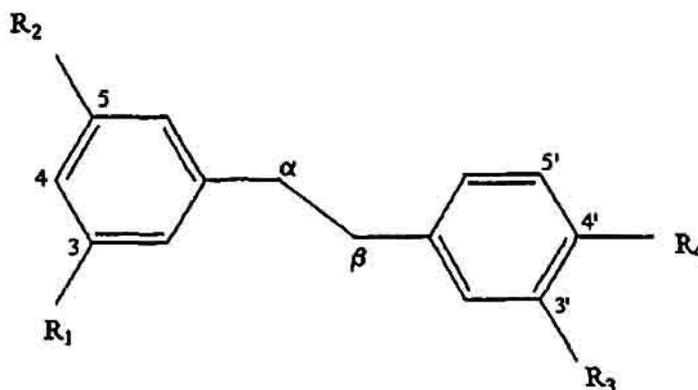
[0018] En otra alternativa, el compuesto purificado tiene la siguiente estructura de Fórmula A,



10 en la que: cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OH$, y el compuesto es piceatanol. En otra alternativa, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 , y R_4 es $-OCH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno. En una alternativa adicional, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 , y R_4 es $-OCH_2-CH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno. En una alternativa adicional, cada uno de R_1 , R_2 y R_4 es $-OCH_3$, R_3 es $-H$, y el compuesto es 3,4',5-trimetoxi-estilbeno.

15

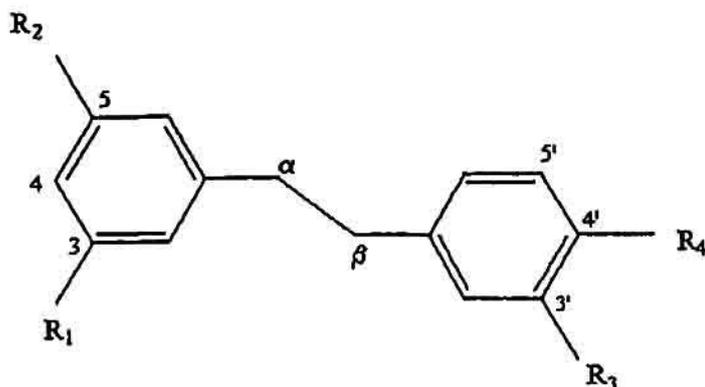
En un aspecto relacionado, el compuesto purificado presenta la siguiente estructura de Fórmula A,



20 en el que: (a) cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se selecciona independientemente entre hidruro, hidroxilo, alcoxilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, azúcar de piranosa, y azúcar de furanosa, (b) cada uno de α y β es de 1 a 5 átomos seleccionados independientemente entre uno o más de oxígeno, carbono, azufre, nitrógeno, y fósforo, en el que los átomos de oxígeno, carbono, azufre, nitrógeno y fósforo están unidos entre sí por uno o más enlaces sencillos o uno o más dobles enlaces, y en el que cada uno de los átomos de oxígeno, carbono, azufre, nitrógeno y fósforo además están opcionalmente unidos a un hidruro o hidroxilo, y (c) el átomo de carbono en la posición 4, en la posición 5', o en las posiciones 4 y 5' está unido covalentemente a un hidruro, hidroxilo, alcoxilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, el azúcar de piranosa o el azúcar de furanosa.

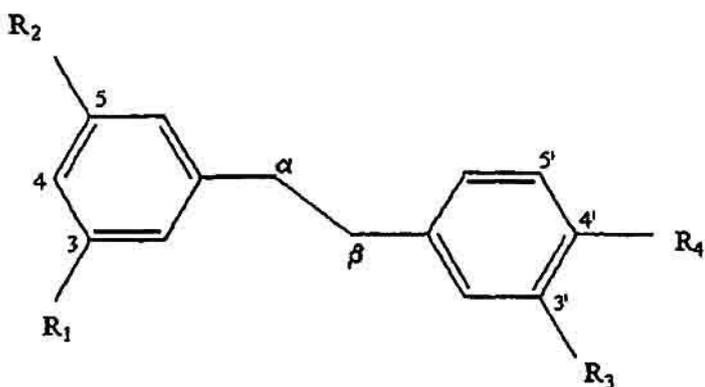
25

[0019] En un aspecto relacionado en particular, el compuesto purificado tiene la Fórmula A,



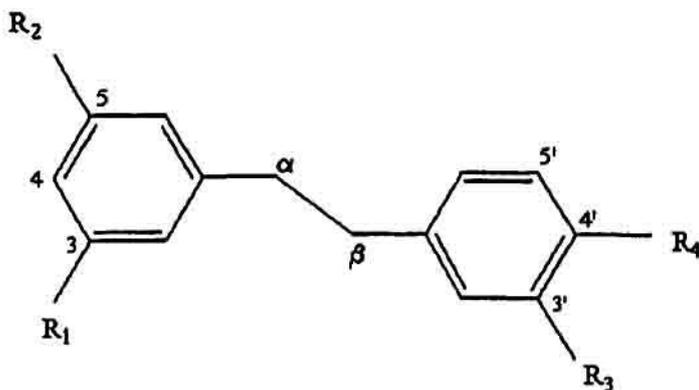
5 en la que: (a) cada uno de R_1 y R_2 se selecciona independientemente entre $-OH$ y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (b) cada uno de R_3 y R_4 se selecciona independientemente entre $-H$, $-OH$, y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (c) cada uno de α y β se selecciona independientemente entre O_n , $(CY)_w$, $(Cy_2)_w$, $(SY)_w$, $(SY_2)_w$, $(NY)_w$, $(NY_2)_w$, $(PY)_w$, y $(PY_2)_w$, (d) n se selecciona entre 0, 1, 2, 3, y 4, y (e) w se selecciona entre 1, 2, 3, y 4, y (e) el átomo de carbono en la posición 4, en la posición 5', o en las posiciones 4 y 5' está unido covalentemente a un hidrido, hidroxilo, alcoxilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, el azúcar de piranosa, o el azúcar de furanosa. En un aspecto relacionado, el compuesto purificado tiene la Fórmula A,

10



15 en la que: (a) cada uno de R_1 y R_2 se selecciona independientemente entre $-OH$ y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (b) cada uno de R_3 y R_4 se selecciona independientemente entre $-H$, $-OH$, y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (c) cada uno de α y β se selecciona independientemente entre O_n , $(CY)_w$, $(Cy_2)_w$, $(SY)_w$, $(SY_2)_w$, $(NY)_w$, $(NY_2)_w$, $(PY)_w$, y $(PY_2)_w$, (d) n se selecciona entre 0, 1, 2, 3, y 4, y (e) w se selecciona entre 1, 2, 3, y 4, y (e) el átomo de carbono en la posición 4, en la posición 5', o en las posiciones 4 y 5' está unido covalentemente a un hidrido, hidroxilo, alcoxilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, azúcar de piranosa, o azúcar de furanosa. La invención además proporciona compuestos para su uso en la reducción de uno o más síntomas de una enfermedad inflamatoria que es la sepsis o el asma, el uso comprende la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto purificado de la Fórmula A,

20

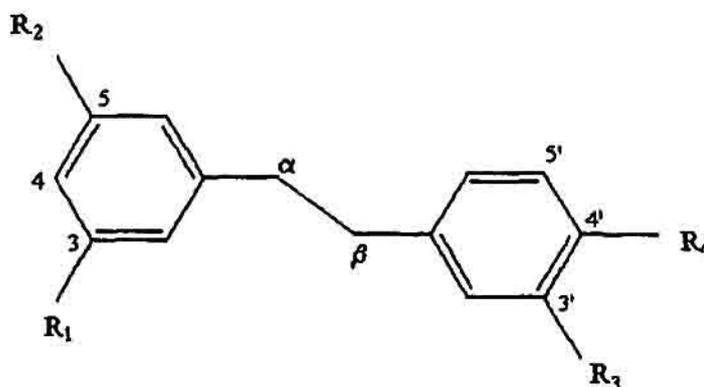


25 en la que: cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OH$, y el compuesto es piceatanol. En una forma de realización más

preferida, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 , y R_4 es $-OCH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno. En otra forma de realización adicional, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 , y R_4 es $-OCH_2-CH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno. Una forma de realización adicional es aquella en la que cada uno de R_1 , R_2 y R_4 es $-OCH_3$, R_3 es $-H$, y el compuesto es 3,4',5-trimetoxi-estilbeno. Lo más preferentemente, el compuesto es piceatanol o 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno.

5
[0020] Aunque no es necesario, es ventajoso que los compuestos relacionados estén glicosilados. En un aspecto de la Fórmula A, R_1 está glicosilado a un azúcar de piranosa o un azúcar de furanosa. Preferentemente, el azúcar de piranosa es glucopiranososa, manopiranososa, galactopiranososa, o fructopiranososa. Alternativamente, el azúcar de furanosa es arabinofuranosa o ribofuranosa. En otra alternativa, el azúcar se esterifica a un resto galoilo. Más preferentemente, el éster es un éster de 2"-O-galato o un éster de 6"-O-galato.

10
[0021] En la presente invención también se proporcionan compuestos para su utilización en la reducción de uno o más síntomas de una enfermedad inflamatoria que es la sepsis o el asma, cuya utilización es para la sepsis o el asma, la utilización que comprende la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto purificado de Fórmula A,



20 en la que: cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OH$, y el compuesto es piceatanol. En una forma de realización adicional, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 , y R_4 es $-OCH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno. En otra forma de realización más, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 , y R_4 es $-OCH_2-CH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno.

25
[0022] Es deseable, aunque no es necesario y no forma parte de la invención, que la Fórmula A esté glicosilada, en la que R_1 está glicosilado a un azúcar de piranosa o un azúcar de furanosa, preferentemente el azúcar de piranosa es glucopiranososa, manopiranososa, galactopiranososa, o fructopiranososa, mientras que el azúcar de furanosa es arabinofuranosa o ribofuranosa. Alternativamente, el azúcar está esterificado a un resto galoilo, y preferentemente el éster es un éster de 2"-O-galato o un éster de 6"-O-galato.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

30
[0023]
 La Figura 1 muestra piceatanol.
 La figura 2 muestra 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno.
 La Figura 3 muestra 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno.
 La Figura 4 muestra resveratrol de referencia.
 La figura 5 muestra 3,4',5-trimetoxi-estilbeno.
 La figura 6 muestra rapontigenina de referencia.
 La figura 7 muestra 2"-O-galato de raponticina de referencia.
 La Figura 8 muestra 6"-O-galato de raponticina de referencia.
 La Figura 9 muestra raponticina de referencia.
 La Figura 10 muestra el número de ratones ST1-/- (diamantes sólidos) y ratones ST1 +/- ratones (cuadrados sólidos) con el tiempo.
 La Figura 11 muestra el número de linfocitos y eosinófilos totales que se infiltran en el fluido de lavado broncoalveolar en los animales tratados con o sin piceatanol.

DEFINICIONES

50
[0024] Para facilitar la comprensión de la invención, a continuación se definen una serie de términos.

[0025] Como se utiliza en el presente documento, el término "purificado" se refiere a un compuesto que se extrae de su entorno natural, se aísla o se separa. Una molécula "aislada" por tanto es una molécula purificada. Las moléculas "purificadas" están al menos el 20% libres, preferentemente al menos el 60% libres, más preferentemente al menos el 75% libres, y lo más preferentemente al menos el 90% libres de otros componentes a los que se encuentran asociadas. Los términos "purificar" y "purificación" denotan la realización de una o más etapas para generar una molécula purificada.

[0026] El término "resolver" o "resolución" cuando se utiliza en el presente documento en referencia a una mezcla racémica se refiere a la separación de un racemato en sus dos formas enantiomórficas (es decir, formas (+) y (-); (R) y (S)). Los términos también pueden referirse a la conversión enantioselectiva de un isómero de un racemato en un producto.

[0027] El término "exceso enantiomérico" o "ee" como se utiliza en el presente documento se refiere a un producto de reacción en el que se produce un enantiómero en exceso con respecto al otro, y se define para una mezcla de (+)- y (-)-enantiómeros, con la composición dada en forma de fracción molar o ponderal o en volumen $F(+)$ y $F(-)$ (en la que la suma de $F(+)$ y $F(-) = 1$). El exceso enantiomérico se define como $F(+)$ - $F(-)$. El exceso enantiomérico en porcentaje se define por $100 \times (F(+)$ - $F(-))$. La "pureza" de un enantiómero se describe por su ee o el valor de ee en porcentaje.

[0028] Ya sea expresado como un "enantiómero purificado" o un "enantiomérico puro" o un "enantiómero resuelto" o "un compuesto en exceso enantiomérico", los términos tal y como se utilizan en la presente invención pretenden indicar que la cantidad de un enantiómero excede la cantidad del otro. Así, cuando se hace referencia a una preparación de enantiómeros, tanto (o cualquiera de) el porcentaje del enantiómero principal (por ejemplo, en moles o en peso o en volumen) como (o) el exceso enantiomérico en porcentaje del enantiómero principal se pueden utilizar para determinar si la preparación representa una preparación de un enantiómero purificado.

[0029] El término "pureza enantiomérica" o "pureza del enantiómero" de un isómero como se utiliza en la presente invención se refiere a una medición cualitativa o cuantitativa del enantiómero purificado; normalmente, la medición se expresa en base al ee o exceso enantiomérico.

[0030] Los términos "enantiómero sustancialmente purificado", "enantiómero sustancialmente resuelto" y "preparación de enantiómero sustancialmente purificada" como se utilizan en la presente invención pretenden indicar una preparación (por ejemplo, procedente de un material de partida, sustrato, o intermedio que no es ópticamente activo) en la que un enantiómero se ha enriquecido sobre el otro, y más preferentemente, en la que el otro enantiómero representa menos del 20%, más preferentemente menos del 10%, incluso más preferentemente menos del 5%, y aún más preferentemente, menos del 2% del enantiómero o de la preparación del enantiómero.

[0031] Los términos "enantiómero purificado", "enantiómero resuelto" y "preparación de enantiómero purificada" como se utilizan en la presente invención pretenden indicar una preparación (por ejemplo, procedente de un material de partida, sustratos, o intermedios que no son ópticamente activos) en la que un enantiómero (por ejemplo, el R-enantiómero) se ha enriquecido sobre el otro, y más preferentemente, en la que el otro enantiómero (por ejemplo, el S-enantiómero) representa menos del 30%, preferentemente menos del 20%, más preferentemente menos del 10%, incluso más preferentemente menos del 5%, y aún más preferentemente menos del 2% de la preparación. Un enantiómero purificado se puede sintetizar sustancialmente libre del otro enantiómero, o un enantiómero purificado se puede sintetizar en un procedimiento estereoselectivo, seguido por etapas de separación, o un enantiómero purificado se puede obtener a partir de una mezcla racémica.

[0032] El término "enantioselectividad", también denominada relación enantiomérica indicada por el símbolo "E", como se utiliza en la presente invención se refiere a la capacidad selectiva de una enzima para generar, a partir de un sustrato racémico, un enantiómero en relación al otro en una mezcla racémica producto; en otras palabras, es una medida de la capacidad de la enzima para distinguir entre enantiómeros. Una reacción o selectiva tiene una E de 1, mientras que resoluciones con valores de E por encima de 20 son útiles para la síntesis o resolución. La enantioselectividad reside en una diferencia en las velocidades de conversión entre los enantiómeros en cuestión. Se obtienen productos de reacción que están enriquecidos en uno de los enantiómeros; por el contrario, los sustratos remanentes están enriquecidos en el otro enantiómero. Para propósitos prácticos en general es deseable que uno de los enantiómeros se obtenga con un gran exceso. Esto se consigue deteniendo la conversión en un determinado grado de conversión.

[0033] El término "hidrido" como se utiliza en la presente invención denota un único átomo de hidrógeno (H). Este grupo hidrido puede estar unido, por ejemplo, a un átomo de oxígeno para formar un grupo hidroxilo; o, como otro ejemplo, dos grupos hidrido pueden estar unidos a un átomo de carbono para formar un grupo $-CH_2-$.

[0034] El término "alquilo" como se utiliza en la presente invención, independientemente de si se utiliza solo o dentro de otros términos como "hidroxialquilo", engloba radicales lineales o ramificados que tienen entre 1 y 20, más preferentemente entre 1 y 10, incluso más preferentemente entre 1 y 4 átomos de carbono, y lo más

preferentemente que tiene un átomo de carbono. Para algunos sustituyentes, radicales alquilo más preferidos son "alquilos inferiores", esto es un alquilo que tiene entre 1 y 10 átomos de carbono, incluso más preferentemente entre 1 y 4 átomos de carbono, y lo más preferentemente un átomo de carbono. Un alquilo como se utiliza en la presente invención incluye restos hidrocarbilo, halocarbilo, e hidrohalocarbilo.

5
[0035] El término "cicloalquilo" como se utiliza en la presente invención engloba radicales cíclicos que tienen entre tres y diez átomos de carbono anulares aproximadamente, preferentemente entre tres y seis átomos de carbono aproximadamente, como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Los términos "alquilo" e "hidroxialquilo" engloban grupos alquilo lineales o ramificados que tienen entre uno y diez átomos de carbono aproximadamente, cualquiera de ellos que puede estar sustituido con uno o más grupos hidroxilo. El término "alqueno" engloba radicales lineales o ramificados que tienen entre dos y veinte átomos de carbono aproximadamente, preferentemente entre tres y diez átomos de carbono aproximadamente, y que contienen al menos un doble enlace carbono-carbono, dicho enlace carbono-carbono que puede tener cualquiera de las dos geometrías *cis* o *trans* dentro del resto alqueno. El término "alquino" engloba radicales lineales o ramificados que tienen entre dos y veinte átomos de carbono aproximadamente, preferentemente entre tres y diez átomos de carbono aproximadamente y que contienen al menos un triple enlace carbono-carbono. El término "cicloalqueno" engloba radicales cíclicos que tienen entre tres y diez átomos de carbono anulares aproximadamente que incluyen uno o más dobles enlaces en los que están involucrados carbonos de anillos adyacentes. Los términos "alcoxi" y "alcoxialquilo" engloban radicales lineales o ramificados que contienen oxígeno cada uno con fracciones alquilo de entre uno y diez átomos de carbono aproximadamente, más preferentemente entre uno y cuatro átomos de carbono, como los grupos metoxi y etoxi. El término "alcoxialquilo" también engloba radicales alquilo que tienen dos o más grupos alcoxi unidos al radical alquilo, esto es, para formar grupos monoalcoxialquilo y dialcoxialquilo. El término "alquiltio" engloba radicales que contienen un grupo alquilo lineal o ramificado, de entre uno y diez átomos de carbono aproximadamente unidos a un átomo de azufre divalente, tal como un grupo metiltio. El término "arilo" engloba radicales aromáticos tales como fenilo, naftilo y bifenilo. El término "haloalquilo" engloba radicales arilo sustituidos con alquilo como bencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, feniletilo, fenilbutilo y difeniletilo. Los términos "bencilo" y "fenilmetilo" son intercambiables. Los términos "ariloxi" y "alquiltio" denotan, respectivamente, grupos arilo que tienen un átomo de oxígeno o azufre a través del cual el radical está unido a un núcleo, ejemplos de los cuales son fenoxi y feniltio. Los términos "sulfinilo" y "sulfonilo", independientemente de si se utilizan solos o unidos a otros términos, denotan respectivamente los radicales divalentes SO y SO₂. El término "aralcoxi", solo o dentro de otro término, engloba un grupo arilo unido a un grupo alcoxi para formar, por ejemplo, benciloxi. El término "acilo" independientemente de si se utiliza solo o dentro de un término como aciloxi, denota un radical proporcionado por el resto después de la retirada del grupo hidroxilo de un ácido orgánico, siendo ejemplos de dichos radicales el acetilo y benzilo. Un "alcanoilo inferior" es un ejemplo de una subclase de acilo más preferida. El término "amido" denota un radical que consiste en un átomo de nitrógeno unido a un grupo carbonilo, cuyo radical puede estar adicionalmente sustituido de la manera descrita en la presente invención. El radical amido puede estar unido al núcleo de un compuesto de la invención a través del resto carbonilo o a través del átomo de nitrógeno del radical amido. El término "alquenalquilo" denota un radical que tiene una posición con una insaturación en forma de doble enlace entre dos carbonos, y cuyo radical puede consistir en únicamente dos carbonos o puede estar adicionalmente sustituido con grupos alquilo que opcionalmente pueden contener insaturaciones de dobles enlaces adicionales. El término "heteroarilo" engloba sistemas anulares aromáticos que contienen uno o dos heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre en un sistema anular que tiene cinco o seis miembros en el anillo, cuyos ejemplos son tienilo, furanilo, piridinilo, tiazolilo, pirimidilo e isoxazolilo. Dicho heteroarilo puede estar unido como sustituyente a través de un átomo de carbono del sistema anular heteroarilo, o puede estar unido a través de un átomo de carbono de un resto sustituido sobre un átomo de carbono miembro del anillo heteroarilo, por ejemplo, a través del sustituyente metileno del resto imidazolmetilo. Además, dicho heteroarilo puede estar unido a través de un átomo de nitrógeno anular mientras se conserve la aromaticidad del resto heteroarilo después de la unión. Los ejemplos específicos de grupos alquilo son metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, metilbutilo, dimetilbutilo, neopentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo, n-undecilo, n-dodecilo, n-tridecilo, n-tetradecilo y n-hexadecilo. Los grupos alqueno y alquino típicos pueden tener un enlace insaturado, como un grupo alilo, o pueden tener una pluralidad de enlaces insaturados, con dicha pluralidad de enlaces que pueden estar adyacentes, como en las estructuras de tipo aleno, o en conjugación, o separados por varios carbonos saturados.

55 **[0036]** Los términos "farmacéuticamente aceptable", "fisiológicamente tolerable" y sus variaciones gramaticales, tal y como se utilizan en la presente invención para referirse a las composiciones, vehículos, diluyentes y reactivos, se usan indistintamente y representan que los materiales se pueden administrar a un sujeto y que los materiales no producen sustancialmente un efecto no deseable como por ejemplo, reacciones adversas o alérgicas, mareos, malestar gástrico, toxicidad y similares, cuando se administran a un sujeto. También preferentemente, el material farmacéuticamente aceptable no reduce sustancialmente la eficacia de la Fórmula A en la reducción de uno o más síntomas de la enfermedad.

65 **[0037]** Los términos "cantidad farmacéuticamente eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz", "cantidad biológicamente eficaz", y "cantidad terapéutica" se utilizan indistintamente en la presente invención para referirse a una cantidad que es suficiente para conseguir un resultado deseado, ya sea cuantitativo o cualitativo. En particular,

una cantidad terapéuticamente eficaz es aquella cantidad que produce la reducción, retraso o eliminación de efectos no deseables (como efectos patológicos, clínicos, bioquímicos y similares) en el sujeto.

[0038] El término "periodo terapéuticamente eficaz" se refiere al periodo de tiempo durante el cual se administra una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto, y que es suficiente para reducir uno o más síntomas de una enfermedad o dolencia.

[0039] El término "simultáneo" cuando hace referencia a la relación entre la administración de un compuesto y los síntomas de una enfermedad significa que la administración se produce al mismo tiempo que, o durante, la manifestación de los síntomas de la enfermedad.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

[0040] La invención proporciona composiciones y su utilización en la reducción de uno o más síntomas de una enfermedad inflamatoria que es sepsis o asma mediante la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto purificado con la Fórmula A. Los usos médicos de la invención son para la prevención, mejora, y tratamiento de una enfermedad inflamatoria, como se define en las reivindicaciones.

[0041] La invención proporciona un compuesto purificado seleccionado del grupo constituido por 3,3',4',5'-tetrametoxi-estilbeno, 3,3',4',5'-tetraetoxi-estilbeno, y 3,4',5'-trimetoxi-estilbeno para su uso en el tratamiento de la sepsis.

[0042] La invención proporciona además un compuesto purificado seleccionado del grupo constituido por piceatanol, 3,3',4',5'-tetrametoxi-estilbeno, 3,3',4',5'-tetraetoxi-estilbeno para su uso en el tratamiento del asma.

[0043] La invención se fundamenta, en parte, en el descubrimiento por parte del inventor de que el piceatanol, cuando se administra a animales sanos, es muy bien tolerado por los animales, es decir, el inventor no detectó ninguna toxicidad aguda o crónica incluso después de inyecciones intraperitoneales repetidas de piceatanol a dosis elevadas (1 mg). Mientras investigaba la activación por parte del lipopolisacárido (LPS) de genes regulados por interferón, el inventor también descubrió que los compuestos de estilbeno natural, piceatanol y resveratrol, bloquean la expresión génica inducida por LPS (por ejemplo, RANTES, MCP-1, TNF) en intervalos de concentración micromolares. En base a estos resultados, el inventor siguió investigando el efecto del compuesto de ejemplo piceatanol sobre el choque séptico en un modelo animal.

[0044] De manera sorprendente, el inventor descubrió que una única administración de piceatanol en un modelo animal de sepsis es capaz de proporcionar una protección de hasta el 100% contra el choque endotóxico (Ejemplo 1). Además, la administración de piceatanol varias horas después de la exposición a LPS en un modelo animal de sepsis salvó al 50% de los animales aproximadamente. Sin limitar la invención a ningún mecanismo particular, la apreciación del inventor es que la eficacia del piceatanol a la hora de reducir los síntomas de la enfermedad que están asociados a enfermedad inflamatoria y rechazo de trasplante puede estar mediada por la interferencia del piceatanol con la transducción de señales *in vivo* mediada por LPS. De hecho, el inventor ha demostrado que el piceatanol bloquea la expresión génica inducida por LPS (por ejemplo, RANTES, MCP-1, ISG54) en intervalos micromolares *in vitro*, y que también está inhibida la producción de TNF- α e IL-6 por parte del piceatanol *in vitro* en respuesta al LPS.

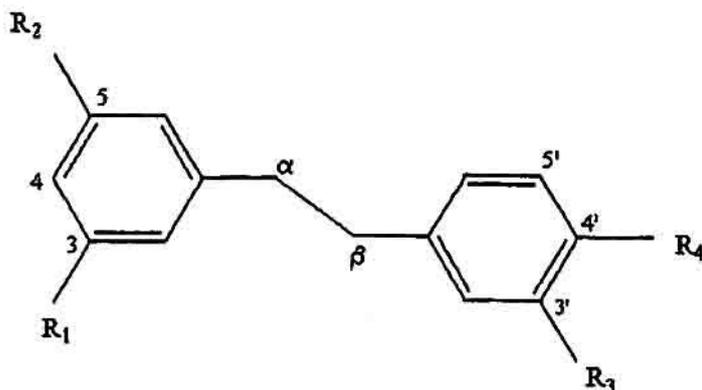
[0045] También de forma sorprendente, el inventor ha descubierto que la administración de piceatanol de ejemplo en un modelo animal de esclerosis múltiple detuvo completamente la progresión de la enfermedad (Ejemplo 3).

[0046] A continuación se describe la invención con mayor detalle en (A) Compuestos de la invención, y (B) Reducción de los síntomas de la enfermedad.

A. compuestos de la invención

[0047] La invención contempla los compuestos de Fórmula A, como se describe en profundidad a continuación. Una ventaja de los compuestos de la invención es su baja toxicidad. Por ejemplo, los datos de la presente invención demuestran la baja toxicidad del piceatanol *in vivo* (Ejemplos 1 y 3). Otra ventaja de los compuestos de la invención es su fácil acceso. De hecho, muchos de los compuestos de la invención se encuentran en plantas como el ruibarbo chino, *Euphorbia* sp., uva, cacahuete, y caña de azúcar. Los compuestos de la invención también son útiles debido a su eficiente absorción por el cuerpo. Por ejemplo, una cantidad superior al 20% del resveratrol ingerido intestinalmente se absorbe hacia el torrente sanguíneo.

[0048] El compuesto purificado tiene la Fórmula A:



En una forma de realización de la Fórmula A, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OH$, y el compuesto es piceatanol. En otra forma de realización alternativa, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OCH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5'-tetrametoxi-estilbeno. En otra alternativa, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OCH_2-CH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5'-tetraetoxi-estilbeno. En una alternativa adicional, cada uno de R_1 , R_2 y R_4 es $-OCH_3$, R_3 es $-H$, y el compuesto es 3,4',5'-trimetoxi-estilbeno. En otra forma de realización, el compuesto es piceatanol, 3,3',4',5'-tetrametoxi-estilbeno.

[0049] En otro aspecto relacionado con la Fórmula A, (a) cada uno de R_1 y R_2 se selecciona independientemente entre $-OH$ y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (b) cada uno de R_3 y R_4 se selecciona independientemente entre $-H$, $-OH$, y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (c) cada uno de α y β se selecciona independientemente entre O_n , $(CY)_w$, $(CY_2)_w$, $(SY)_w$, $(SY_2)_w$, $(NY)_w$, $(NY_2)_w$, $(PY)_w$, y $(PY_2)_w$, (d) n se selecciona entre 0, 1, 2, 3, y 4, (e) w se selecciona entre 1, 2, 3, y 4, y (f) y (c) el átomo de carbono en la posición 4, en la posición 5', o en las posiciones 4 y 5' está unido covalentemente a un hidrido, hidroxilo, alcoxilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, azúcar de piranosa o azúcar de furanosa.

[0050] Otra alternativa relacionada con la Fórmula A es aquella en la que (a) cada uno de R_1 y R_2 se selecciona independientemente entre $-H$, $-OH$ y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (b) cada uno de R_3 y R_4 se selecciona independientemente entre $-OH$ y $-O(CH_2)_n-CH_3$, (c) cada uno de α y β se selecciona independientemente entre O_n , $(CY)_w$, $(CY_2)_w$, $(SY)_w$, $(SY_2)_w$, $(NY)_w$, $(NY_2)_w$, $(PY)_w$, y $(PY_2)_w$, (d) n se selecciona entre 0, 1, 2, 3, y 4, (e) w se selecciona entre 1, 2, 3, y 4, y (f) el átomo de carbono en la posición 4, en la posición 5', o en las posiciones 4 y 5' está unido covalentemente a un hidrido, hidroxilo, alcoxilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, azúcar de piranosa o furanosa azúcar.

[0051] Para la Fórmula A, cada uno de α y β es $-CH-$. En una forma de realización, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OH$, y el compuesto es piceatanol (Figura 1). El piceatanol es un derivado natural de estilbeno parcialmente soluble en agua (tetrahidroxil-estilbeno, peso molecular = 244,2 aproximadamente) para el que se ha encontrado una aplicación limitada en el laboratorio como inhibidor de las tirosina quinasa Syk y ZAP70 (Geahlen, y col. (1989) BBRC 165, nº 1:241-5). El piceatanol actúa como un potente inhibidor de la tirosina quinasa Tyk2 (Su, y col. (2000) J. Biol. Chem. 275, nº 17:12661-6).

[0052] Alternativamente, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OCH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5'-tetrametoxi-estilbeno (Figura 2). Sin embargo en otra alternativa, cada uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es $-OCH_2-CH_3$, y el compuesto es 3,3',4',5'-tetraetoxi-estilbeno (Figura 3). Una alternativa es aquella en la que cada uno de R_1 , R_2 y R_4 es $-OCH_3$, R_3 es $-H$, y el compuesto es 3,4',5'-trimetoxi-estilbeno (Figura 5).

[0053] En un aspecto relacionado, los compuestos están glicosilados. Se prefieren los compuestos glicosilados de cada una de las Fórmulas A-E, puesto que en opinión del inventor la glicosilación incrementa la solubilidad y/o eficacia del compuesto. Los compuestos glicosilados están ejemplificados por la raponticina (Figura 9). Por ejemplo, con respecto a la Fórmula A, se prefiere que R_1 esté glicosilado en un azúcar de piranosa o un azúcar de furanosa. Preferentemente, el azúcar de piranosa se selecciona entre glucopiranosa, manopiranosa, galactopiranosa, y fructopiranosa. Alternativamente, el azúcar de furanosa se selecciona entre arabinofuranosa y ribofuranosa. En otra alternativa, el azúcar está esterificado a un resto galoilo. Más preferentemente, el éster es un éster de 2''-O-galato como se ejemplifica por el 2''-O-galato de raponticina (Figura 7). En un aspecto preferido, el éster es un éster de 6''-O-galato como se ejemplifica por el 6''-O-galato de raponticina (Figura 8).

[0054] Además de los derivados glicosilados de los compuestos, la divulgación contempla compuestos en cualquiera de las dos formas *cis* o *trans* así como polímeros de la Fórmula A.

[0055] La invención también contempla expresamente sales farmacéuticamente aceptables de la Fórmula A. El término "sal farmacéuticamente aceptable" engloba cualquier sal utilizada habitualmente para formar sales de metales alcalinos y para formar sales de adición de ácidos libres o bases libres, incluyendo sales de amonio cuaternario. La naturaleza de la sal no es crítica, siempre que sea farmacéuticamente aceptable. Se pueden

preparar sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables adecuadas de cada uno de los compuestos con la Fórmula A a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Los ejemplos de dichos ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico, cítrico, y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados se puede seleccionar de clases de compuestos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos, heterocíclicos, carboxílicos y sulfónicos de ácidos orgánicos, este último que está ejemplificado por el ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, p-hidroxibenzoico, salicílico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxi-etanosulfónico, pantoténico, bencenosulfónico, toluensulfónico, sulfanílico, mesílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, alginico, β -hidroxibutírico, malónico, galactárico y galacturónico. En particular se prefieren sales farmacéuticamente aceptables como clorhidratos, sulfatos, citratos, tartratos y fosfatos. Las sales de adición básica farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de Fórmula A incluyen sales metálicas obtenidas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc o sales orgánicas obtenidas a partir de N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Todas estas sales se pueden preparar por medios convencionales a partir del compuesto correspondiente de la Fórmula A haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o la base apropiada con el compuesto de cada uno de la Fórmula A. Dentro del alcance de la invención no se incluyen los isómeros de la Fórmula A. El término "isómero" se refiere a compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero que difieren en su estructura, como diastereoisómeros, regioisómeros, isómeros conformacionales, isómeros geométricos, enantiómeros, y sus sales farmacéuticamente aceptables. Los isómeros que difieren sólo en la configuración y/o conformación se denominan "estereoisómeros". Por lo tanto, un "isómero conformacional" se refiere a un compuesto que existe en diferentes formas conformacionales. Por ejemplo, diferentes conformeros de un único compuesto pueden ser consecuencia de asimetrías de torsión debidas a una rotación restringida alrededor de un enlace sencillo asimétrico, por ejemplo, debidas a impedimentos estéricos o a la tensión del anillo.

[0056] Los compuestos de Fórmula A pueden presentar uno o más átomos de carbono asimétricos y por tanto pueden existir en forma de isómeros ópticos así como en forma de sus mezclas racémicas o no racémicas. Los isómeros ópticos se pueden obtener mediante la resolución de mezclas racémicas según los procedimientos convencionales, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoisoméricas por tratamiento con un ácido o base ópticamente activos. Los ejemplos de ácidos adecuados son el ácido tartárico, diacetiltartárico, dibenzoiltartárico, ditoluiltartárico y canforsulfónico y, a continuación la separación de la mezcla de diastereoisómeros por cristalización seguida de la liberación de las bases ópticamente activas de estas sales. Un procedimiento diferente para la separación de isómeros ópticos implica el uso de una columna de cromatografía quiral seleccionada de forma óptima para maximizar la separación de los enantiómeros. Otro procedimiento disponible adicional supone la síntesis de moléculas diastereoisoméricas covalentes haciendo reaccionar un compuesto de la Fórmula A con un ácido ópticamente puro en una forma activada o un isocianato ópticamente puro. Los diastereoisómeros sintetizados se pueden separar por medios convencionales como cromatografía, destilación, cristalización o sublimación, y a continuación se pueden hidrolizar para suministrar el compuesto enantioméricamente puro. El compuesto ópticamente activo de la Fórmula A asimismo se puede obtener mediante la utilización de materiales de partida ópticamente activos. Estos isómeros pueden estar en la forma de ácido libre, base libre, éster o sal.

[0057] El término "enantiómeros" se utiliza para describir uno de un par de isómeros moleculares que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Otros términos utilizados para designar o hacer referencia a enantiómeros incluyen "estereoisómeros" (debido a la disposición o estereoquímica diferente en torno al centro quiral; aunque todos los enantiómeros son estereoisómeros, no todos los estereoisómeros son enantiómeros) o "isómeros ópticos" (debido a la actividad óptica de los enantiómeros puros, que es la capacidad de diferentes enantiómeros puros para rotar el plano de la luz polarizada en diferentes direcciones). En general, un enantiómero se refiere a un compuesto que contiene uno o más centros quirales, y existe en diferentes formas ópticamente activas. Cuando los compuestos de cada una de las Fórmulas A-E contienen un centro quiral, los compuestos existen en dos formas enantioméricas y la presente invención incluye tanto los enantiómeros como las mezclas de enantiómeros. Los enantiómeros tienen idénticas propiedades físicas, como los puntos de fusión y los puntos de ebullición, y también tienen propiedades espectroscópicas idénticas. Los enantiómeros difieren entre sí con respecto a su interacción con el plano de la luz polarizada y con respecto a la actividad biológica.

[0058] Para los enantiómeros, las designaciones "R y S" se utilizan para denotar la configuración absoluta de la molécula en torno a su(s) centro(s) quiral(es). Las designaciones pueden aparecer como prefijo o como sufijo; opcionalmente pueden estar separadas del isómero mediante un guion; opcionalmente pueden aparecer con guiones; y opcionalmente pueden estar dentro de paréntesis.

[0059] Las designaciones o prefijos "(+) y (-)" para los enantiómeros se emplean para indicar el signo de la rotación del plano de la luz polarizada producida por el compuesto, con (-) que significa que el compuesto es levógiro (produce rotación hacia la izquierda). Un compuesto con el prefijo (+) es dextrógiro (produce rotación hacia la derecha).

[0060] Los enantiómeros se pueden resolver mediante procedimientos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoisoméricas que se pueden separar, por ejemplo, mediante

5 cristalización; formación de derivados o complejos diastereoisoméricos que se pueden separar, por ejemplo, mediante
cristalización, cromatografía líquida o de gas-líquido; reacción selectiva de un enantiómero con un reactivo
específico para el enantiómero, por ejemplo, esterificación enzimática; o cromatografía líquida o de gas-líquido en un
entorno quiral, por ejemplo, sobre un soporte quiral como sílice con un ligando quiral unido o en presencia de un
10 disolvente quiral. Se apreciará que cuando el enantiómero deseado se convierte en otra entidad química mediante
uno de los procedimientos de separación descritos anteriormente, es necesaria una etapa adicional para liberar la
forma enantiomérica deseada. Alternativamente, se pueden sintetizar enantiómeros específicos mediante síntesis
asimétrica utilizando reactivos, sustratos, catalizadores o disolventes ópticamente activos, o convirtiendo un
enantiómero en el otro mediante transformación asimétrica.

15 **[0061]** El término "mezcla racémica", "compuesto racémico" o "racemato" se refiere a una mezcla de los dos
enantiómeros de un compuesto. Una mezcla racémica ideal es aquella en la que existe una mezcla al 50:50 de los
dos enantiómeros de un compuesto de forma que la rotación óptica del enantiómero (+) cancela la rotación óptica
del enantiómero (-).

20 **[0062]** La divulgación además contempla formas diastereoméricas de la Fórmula A. El término "diastereoisomérico"
cuando hace referencia a la forma de un compuesto con la Fórmula A se refiere a un compuesto que contiene más
de un centro quiral. Los pares diastereoisoméricos se pueden separar mediante procedimientos conocidos por los
expertos en la materia, por ejemplo, cromatografía o cristalización, y los enantiómeros individuales dentro de cada
par se pueden separar como se ha descrito anteriormente. La presente invención incluye cada uno de los
diastereoisómeros de los compuestos de la Fórmula A y sus mezclas.

25 **[0063]** Además, la divulgación también contempla expresamente solvatos (como hidratos), tautómeros, y formas
bipolares de la Fórmula A y sus sales.

30 **[0064]** En una forma de realización, los compuestos de la invención incluyen piceatanol (Figura 1) (también
denominado en la presente invención 3,3',4,5'-tetrahidroxi-trans-estilbeno o tetrahidroxi-estilbeno). El piceatanol es
un derivado natural del estilbeno soluble en agua que se encuentra en muchas plantas con un largo historial de
consumo humano (por ejemplo, uvas, *Euphorbia* sp., ruibarbo, etc.) (Kageura, y col. (2001) *Bioorg Med Chem* 9, nº
7:1887-93; Ko, y col. (1999) *Arch Pharm Res* 22, nº 4:401-3; Bavaresco, y col. (1999) *Drugs Exp Clin Res* 25, nº 2-
3:57-63; Waffo Teguo, y col. (1998) *J Nat Prod* 61, nº 5:655-7). El resveratrol es el principio activo del vino tinto
responsable de la baja incidencia de enfermedades cardíacas en la población francesa a pesar de una dieta rica en
grasas ("French Paradox") (Palmieri, y col. (1999) *Drugs Exp Clin Res* 25, nº 2-3:79-85).

35 **[0065]** En aún otra forma de realización, los compuestos incluyen tetrametoxi-estilbeno (Figura 2), tetra-
etoxiestilbeno (Figura 3), y tri-metoxi-estilbeno (Figura 5). La opinión del inventor es que puesto que los compuestos
hidroxifenólicos normalmente se metabolizan y se inactivan rápidamente *in vivo* por conjugación del ácido
glucurónico con los grupos hidroxilo, la modificación de los compuestos de la invención para evitar la disponibilidad
de los grupos -OH libres incrementaría la semi-vida biológica de los compuestos. De hecho, el inventor ha
40 determinado que el 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno *in vitro* es tan eficaz como el piceatanol en la inhibición de la
inducción de ISG mediada por LPS.

45 **[0066]** Los procedimientos para producir los compuestos de la invención son conocidos en la materia, tales como
aquellos para la preparación de estilbenos hidroxilados (Moreana-Manas, M. y col., *Anal Quim* (1985) 81:157-161;
Jeandet, P. y col., *Am J. Enol Vitic* (1991) 42:41-6; Goldberg D M y col. *Anal Chem* (1994) 66:3959-63, Murakami, S
y col., *Biochem Pharmacol.* (1992) 44:1947-51; y Thakkar, K y col., *J. Med Chem* (1993) 36:2650-51). Además, el
piceatanol está disponible en el mercado en Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, CalBiochem, y A.G. Scientific; el
resveratrol está disponible en el mercado en Sigma; y el 3,3',4,5-tetrametoxi-estilbeno está sintetizado por Biocon
50 India Ltd. (India).

55 **[0067]** Además, se pueden aislar otros compuestos que entran dentro del alcance de la invención a partir de
tejidos vegetales, como el rizoma de *R. undulatum* [Kaguera y col. (2001) *supra*]. En particular, las plantas que son
fuentes naturales de resveratroles incluyen *Vitis vinifera* y *Polygonum cuspidatum* (Huzhang). La concentración de
resveratrol en *P. cuspidatum* es mucho más alta que en *V. vinifera*. En la técnica se conocen varios protocolos para
el aislamiento de resveratroles a partir de materiales vegetales [Raventos y col., *J. Agric. Food Chem.*, 43, pp 281-
283 (1995); Langcake y col., *Physiological Plant Pathology*, vol. 9, pp 77-86 (1976)]. Por otra parte, el resveratrol y
sus derivados se pueden aislar a partir de tejidos de plantas transgénicas que expresan la resveratrol sintasa
exógena de la vid como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.500.367 expedida el 19 de marzo de 1996 a Hain
y col.

60 B. Reducción de los síntomas de la enfermedad

65 **[0068]** La invención contempla la utilización de los compuestos de la invención de Fórmula A para reducir uno o
más síntomas de la sepsis y el asma.

[0069] El término "enfermedad" se refiere a una interrupción, cese, o trastorno de la función, sistemas, u órganos del cuerpo. El término "enfermedad" incluye respuestas a lesiones, especialmente si dichas respuestas son excesivas, producen síntomas que interfieran excesivamente con actividades normales del individuo, y/o el tejido no sana normalmente (en donde excesivo se caracteriza como el grado de interferencia, o la duración de la interferencia).

[0070] El término "valencia" se utiliza para referirse a una enfermedad y/o una respuesta a una lesión (por ejemplo, traumatismo, etc.) o tratamiento (por ejemplo, cirugía, trasplante de tejido de un donante, etc.).

[0071] Los términos "que reduce uno o más síntomas de una enfermedad", "que reduce la gravedad de una dolencia patológica", "que disminuye la gravedad de una dolencia patológica", y "que reduce los síntomas asociados a una dolencia patológica" significan que uno o más signos o síntomas clínicos adversos asociados a la dolencia o enfermedad patológica se ven reducidos, retrasados, o eliminados, en comparación con el nivel de la dolencia o enfermedad patológica en ausencia del tratamiento con la composición o procedimiento particular. Los efectos de reducción de la gravedad de una dolencia patológica se pueden determinar mediante procedimientos rutinarios por los expertos en la materia que incluyen, angiografía, evaluación por ultrasonidos, obtención de imágenes por fluoroscopia, examen endoscópico con una fibra óptica, biopsia e histología, análisis de sangre, que se pueden utilizar para determinar los niveles de enzimas relevantes o de antígeno o anticuerpo en circulación, pruebas de imágenes que se pueden utilizar para detectar una disminución de la inflamación, o un procedimiento oftálmico que se puede utilizar para identificar una reducción en el número de vasos sanguíneos en la retina de un paciente diabético. Dichas pruebas clínicas se seleccionan en base a la dolencia patológica particular a tratar. También se puede detectar una reducción en la gravedad de una dolencia patológica en base a los comentarios realizados por el paciente que está siendo tratado, por ejemplo, un paciente que sufre artritis y siente menos dolor o tiene una mayor movilidad articular, o un paciente con retinopatía diabética que puede ver más claramente, o similares.

[0072] En un aspecto relacionado, la enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino (EII). Las EII comprenden un componente autoinmune así como una respuesta inflamatoria a la exposición crónica a LPS. El hecho de que la EII se pueda inducir en modelos animales mediante transferencia adoptiva de linfocitos T CD4⁺CD45RB^{hi} caracteriza esta enfermedad como un trastorno autoinmune (Kawachi, y col. (2000) BBRC 268, nº 2:547-52). Evidencias adicionales del papel de las células TH1 CD4⁺ provienen de la observación de que el bloqueo de los efectos de la IL-12, la citoquina necesaria para la inducción y mantenimiento de las células TH1, parece prevenir la colitis murina (Neurath, y col. (1995) J. Exp. Med. 182, nº 5:1281-90). Por último, la supresión de la producción de citoquinas como TNF α e IL-6 por los macrófagos y otras células inmunitarias innatas también suprime el proceso patológico en modelos animales (Atreya, y col. (2000) Nat. Med. 6, nº 5:583-8; van Dullemen, y col. (1995) Gastroenterology 109, nº 1:129-35).

[0073] El proceso inflamatorio del intestino permite que los productos bacterianos que están muy presentes en la materia fecal se introduzcan en el torrente sanguíneo, donde promueven una mayor activación de la respuesta inmune (Aoki (1978) Acta Med Okayama 32, nº 2:147-58; Grimm, y col. (1995) Clin Exp Immunol 100, nº 2:291-7). Se han detectado endotoxinas o lipopolisacáridos (LPS) bacterianos en el plasma de pacientes con EII, y se han detectado citoquinas y quimiocinas pro-inflamatorias en cantidades elevadas en el tejido de la mucosa y/o en sangre periférica, lo que sugiere una estimulación de los monocitos/macrófagos por bacterias entéricas y/o sus componentes (por ejemplo, el LPS). Esto a su vez agrava los procesos inflamatorios en el intestino e incrementa aún más el daño de la mucosa, que permite que incluso más LPS y componentes similares crucen la barrera intestinal. Este proceso de auto-alimentación en última instancia da lugar a una progresión de la enfermedad acelerada de manera constante.

[0074] El término "inflamatorio" cuando se utiliza en referencia a una enfermedad o dolencia se refiere a un proceso patológico provocado por, como consecuencia de, o que produce una inflamación que es inapropiada y/o no se resuelve de la forma normal sino que persiste y produce un estado inflamatorio. La inflamación produce una respuesta a una lesión o estimulación anormal provocada por un agente físico, químico, o biológico; estas reacciones incluyen reacciones locales y producen cambios morfológicos, destrucción o eliminación del material dañado, y respuestas que dan lugar a la reparación y la curación. Las enfermedades y dolencias inflamatorias pueden ser sistémicas (por ejemplo, lupus) o localizadas en tejidos u órganos particulares. Un tema subyacente en la enfermedad inflamatoria es una perturbación de la respuesta inmune celular que produce el reconocimiento de proteínas, tales como proteínas hospedadoras (antígenos), como si fueran exógenas. Así, la respuesta inflamatoria se dirige de forma errónea hacia los tejidos del hospedador, con células efectoras selectivas de órganos o tejidos específicos que con frecuencia quedan dañados de forma irreversible. El aspecto del auto-reconocimiento de la enfermedad autoinmune a menudo se ve reflejado por la expansión clonal de subgrupos de linfocitos T caracterizados por un subtipo del receptor de linfocitos T (TCR) en el estado patológico. Con frecuencia, la enfermedad inflamatoria también se caracteriza por un desequilibrio en los niveles de subgrupos de linfocitos T efectores (TH) (es decir, linfocitos TH1 frente a linfocitos TH2).

[0075] Ejemplos de enfermedades inflamatorias que se desvelan incluyen sepsis, choque séptico, choque endotóxico, enfermedad inflamatoria del intestino tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa, esclerosis

múltiple, enfermedades inflamatorias que suponen la inflamación aguda o crónica de hueso y/o cartilago en una articulación, reacción anafiláctica, nefritis, asma, conjuntivitis, enfermedad periodontal inflamatoria, lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus dependiente de insulina, sarcoidosis pulmonar, inflamación ocular, alergia, enfisema, lesión por isquemia-reperfusión, fibromialgia, una enfermedad cutánea seleccionada entre psoriasis y dermatitis, o una artritis seleccionada entre artritis reumatoide, artritis gotosa, artritis reumatoide juvenil, y artrosis. En un aspecto, la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide. La infiltración de macrófagos y la activación de los linfocitos son pasos críticos en el desarrollo de la artritis reumatoide.

[0076] En base a lo anterior, la invención es útil para reducir uno o más síntomas de una enfermedad inflamatoria que es la sepsis o el asma.

[0077] Aunque no es necesaria una comprensión del mecanismo de acción de los compuestos de la invención en una cualquiera de las dolencias en las que tienen utilidad, la opinión del inventor es que los compuestos desvelados en la presente invención bloquean la expresión génica inducida por LPS de genes regulados por interferón mediante IRF3. El mecanismo mediante el cual los interferones activan la expresión génica ha sido objeto de grandes esfuerzos en investigación durante muchos años. El primer avance significativo se realizó cuando se identificó el elemento de respuesta estimulada por interferón (EREI) como un potenciador inducible por IFN α/β , cuya activación es necesaria y suficiente para la inducción de la expresión génica estimulada por IFN α/β (Reich, y col. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:6394-6398; Levy, y col. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:8929-8933; Larner, y col. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6733-6737). Las proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción (STAT) 1 y 2 junto con el factor regulador del interferón 9 (p48, ISGF3 γ) forman el complejo ISGF3 que se une al EREI en respuesta a la estimulación de IFN α/β .

[0078] Se han identificado numerosos genes que contienen un EREI. Representan componentes de la defensa antivírica como la 2',5'-poli-A-sintasa (Zhou, y col. (1993) Cell 72:753-755; Hassel, y col. (1993) EMBO 12, nº 8:3927-3304) y la proteína quinasa activada por ARN de doble cadena (PKR) (Katze, y col. (1991) Molecular Cellular Biology 11, nº 11:5497-5505), proteínas de la superficie celular como ICAM (Dustin, y col. (1986) J Immunol. 137, nº 1:245-54; Marotta, y col. (1993) Blood. 81, nº 1:267-9) o moléculas de clase I y II del MHC (Loh, y col. (1992) EMBO 11, nº 4:1351-1363), genes que codifican quimiocinas tales como RANTES, MCP, ISG15, IP10 (Reich, y col. (1987); Luster, y col. (1987) Mol. Cell. Biol. 7:3723-3731), así como muchos otros genes con funciones aún por descubrir como ISG54, ISG56 (Larner, y col. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6733-6737), GBP (Decker, y col. (1989) EMBO J 8:2009-2014) o 6-16 (Porter, y col. (1988) EMBO J. 7:85-92).

[0079] El inventor cree que los compuestos de la invención pueden funcionar mediante la inhibición de la producción de citoquinas a través de la activación del factor regulador de interferón 3. Los vertebrados e invertebrados responden a la infección bacteriana o vírica mediante la activación de un mecanismo de defensa que es parte de la respuesta inmunitaria innata. La infección vírica es el inductor principal de la transcripción de genes que codifican diversos tipos de interferones. Se ha encontrado independientemente por diversos laboratorios que el IRF3 que se expresa de forma ubicua es un importante factor de la respuesta celular a la infección vírica. La infección de fibroblastos primarios con citomegalovirus humano provoca la traslocación nuclear de IRF3 y la unión cooperativa de EREI con el co-activador transcripcional CBP/p300. A esto le sigue la posterior inducción de un subgrupo distinto de genes que contienen EREI (Navarro, y col. (1998) Mol. Cell. Biol. 18, nº 7:3796-3802). Otros grupos han notificado observaciones similares después de infecciones de células con el virus de la enfermedad de Newcastle o virus Sendai (Lin, y col. (1998) Mol Cell Biol. 18, nº 5:2986-96; Yoneyama, y col. (1998) EMBO J. 17, nº 4:1087-1095; Wathelet, y col. (1998) Molecular Cell 1:507-518). La activación de IRF-3 requiere la fosforilación de varios restos de serina localizados en dos grupos en el carboxi-término de la proteína.

[0080] El reconocimiento inmunitario innato de la infección bacteriana está mediado por un sistema de receptores codificados en línea germinal (receptores Toll) que reconocen patrones moleculares conservados asociados a patógenos microbianos como los lipopolisacáridos (LPS) de la pared de la célula bacteriana (Kopp, y col. (1999) Curr Opin Immunol. 11, nº 1:13-8). Estos receptores, que están acoplados a las cascadas de señalización aguas abajo que median en la inducción de los genes de la respuesta inmunitaria representan el sistema de defensa del hospedador más antiguo encontrado en mamíferos, insectos y plantas. En mamíferos, son principalmente los monocitos y macrófagos los que responden al LPS, liberando citoquinas y quimiocinas que provocan una respuesta inflamatoria. Cantidades excesivas de LPS pueden producir un síndrome fatal conocido como choque séptico (Kopp, y col. (1999) Curr Opin Immunol. 11, nº 1:13-8).

[0081] La cola citoplasmática de los receptores tipo Toll es homóloga a la región intracelular del receptor de IL-1 y por tanto se conoce como el dominio de homología Toll/IL-1R (TIR) (Kopp, y col. (1999) Curr Opin Immunol. 11, nº 1:13-8). A lo largo de los últimos años se han realizado avances significativos en la identificación de las moléculas de señalización involucradas en la expresión génica inducida por Toll/IL-1R, no obstante, la mayoría del trabajo se ha centrado en la vía de señalización que da lugar a la activación del factor nuclear NF κ B.

[0082] El inventor ha propuesto la hipótesis de que la activación de IRF3 representa una respuesta celular general al contacto con patógenos, y he investigado si el LPS sería capaz de iniciar dicha respuesta; similar a la activación

vírica, la inducción de ISG por parte del LPS supone la activación de IRF3, pero no de las proteínas STAT (Navarro, y col. (1999) J Biol Chem 274, nº 50:35535-8). En un esfuerzo por trazar la cascada de señalización mediada por LPS que da lugar a la fosforilación de IRF3, el inventor ha encontrado que la tirosina quinasa Tyk2, una quinasa de la familia Jak involucrada en la vía de señalización del interferón de tipo I también se activa rápidamente en respuesta al LPS. Curiosamente, los macrófagos deficientes en Tyk2 no son capaces de regular hacia arriba la óxido nítrico sintasa (NOS) en respuesta al LPS (Karaghiosoff, y col. (2000) Immunity 13, nº 4:549-60).

[0083] Con respecto a la administración de los compuestos de la invención a un sujeto, se contempla que los compuestos se administren en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La persona con conocimientos en la materia reconoce que una cantidad terapéuticamente eficaz varía dependiendo del agente terapéutico utilizado, la edad del sujeto, la dolencia, y el sexo, y del grado de la enfermedad en el sujeto. En general, la dosificación no debe ser tan grande como para provocar efectos secundarios adversos, como síndromes de hiperviscosidad, edema pulmonar, insuficiencia cardíaca congestiva, y similares. La dosificación también puede ser ajustada por el médico o veterinario individual para conseguir el objetivo terapéutico deseado.

[0084] Tal y como se utiliza en la presente invención, la cantidad real englobada por el término "cantidad farmacéuticamente eficaz" depende de la vía de administración, el tipo de sujeto a tratar, y las características físicas del sujeto específico en consideración. Estos factores y su relación para determinar esta cantidad son muy conocidos por los facultativos expertos en materia médica, veterinaria, y otras materias relacionadas. Esta cantidad y el procedimiento de administración se pueden ajustar para conseguir una eficacia óptima, pero dependerán de factores como el peso, la dieta, la medicación simultánea y otros factores que reconocerán los expertos en la materia.

[0085] La cantidad y frecuencia de la dosificación se seleccionan para crear un nivel eficaz del compuesto sin efectos sustancialmente perjudiciales. Cuando se administra por vía oral o intravenosa, la dosificación de un compuesto de Fórmula A en general oscila de 0,001 a 1000 mg/kg/día, más preferentemente de 0,01 a 100 mg/kg/día, y lo más preferentemente de 0,1 a 10 mg/kg/día. Para conseguir estas concentraciones en el sujeto, cuando está destinado a la administración por vía oral, el peso de la Fórmula A puede ser del 0,01% al 90%, más preferentemente del 0,1% al 50%, y lo más preferentemente del 0,1% al 70% del peso total, de la composición. Unidades de dosificación parenterales preferidas contienen del 0,001% al 10%, más preferentemente del 0,01% al 10%, y lo más preferentemente del 0,01% al 1% en peso de la Fórmula A. Cuando se administra por vía intranasal o por inhalación, el intervalo de dosificación puede ser de 0,001 a 100 mg/kg/día, más preferentemente de 0,01 a 10 mg/kg/día, y lo más preferentemente de 0,01 a 1 mg/kg/día. Las formulaciones tópicas pueden contener una concentración del compuesto de Fórmula A del 0,1% al 50% en p/v (unidad en peso por unidad de volumen), más preferentemente del 0,01% al 20% en p/v, y lo más preferentemente del 0,1% al 10% en p/v.

[0086] Una cantidad farmacéuticamente eficaz se puede determinar utilizando ensayos *in vitro* e *in vivo* conocidos en la materia y desvelados en la presente invención. Por ejemplo, con respecto a la reducción de los síntomas de la enfermedad inflamatoria del intestino que no forma parte de la invención, la eficacia de los compuestos de Fórmula A se puede determinar utilizando transferencia adoptiva de células CD4⁺CD45RB^{hi} y/o ratones inactivados genéticamente para IL-10 en combinación con análisis fisiológicos e histopatológicos de los animales tratados (Ejemplo 2). En referencia a la sepsis, choque séptico, o choque endotóxico, como modelos se pueden utilizar animales murinos (Ejemplo 1) y animales caninos (Sevransky y col. (1997) J. Clin. Invest. 99:1966-1973). Con respecto a la esclerosis múltiple que no forma parte de la invención, se pueden utilizar ratones MBP-TCR⁺/STAT como se describe en la presente invención (Ejemplo 3). También se conocen en la materia modelos animales para el asma, como el modelo animal murino desvelado en la presente invención (Ejemplo 4).

[0087] Los procedimientos de administración de una cantidad farmacéuticamente eficaz de los compuestos de la invención son muy conocidos en la materia e incluyen la administración en forma parenteral, oral, intraperitoneal, intranasal, tópica, sublingual, rectal, y vaginal. Las vías de administración parenteral incluyen, por ejemplo, las vías por inyección e infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, e intraesternal.

[0088] Los compuestos de la invención se pueden administrar antes, simultáneamente con, y/o después de la manifestación de uno o más síntomas de una enfermedad o dolencia. Además, los compuestos de la invención se pueden administrar antes, simultáneamente con, y/o después de la administración de otro tipo de fármaco o procedimiento terapéutico (por ejemplo, cirugía). Por ejemplo, en el caso de la sepsis, los compuestos de la invención se pueden administrar antes, simultáneamente con, y/o después de la administración de antibióticos.

[0089] Las composiciones farmacéuticas preferentemente comprenden uno o más compuestos de la invención asociados a uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Durante la preparación de dichas composiciones, los principios activos normalmente se mezclan o se diluyen con un excipiente o se encierran dentro de dicho vehículo que puede estar en forma de cápsula o bolsita en el que el revestimiento puede ser gelatina, azúcar, goma laca, y otros agentes de revestimiento entérico. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como vehículo, portador, o medio para el principio activo. Así, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, elixires,

suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones estériles inyectables y polvos estériles envasados. Los ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, goma arábiga, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, y metilcelulosa.

5
[0090] Los vehículos farmacéuticamente aceptables son conocidos en la materia, como los descritos en, por ejemplo, Remingtons Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). Vehículos farmacéuticamente aceptables ejemplares son solución salina estéril, tampón fosfato salino a pH fisiológico, polietilenglicoles, copolímeros de polipropileno, y geles solubles en agua.

10
[0091] Otros compuestos que se pueden incluir con las composiciones de la invención incluyen, por ejemplo, diluyentes, cargas, sales, tampones, conservantes (por ejemplo, benzoato sódico, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico), estabilizantes, colorantes, antioxidantes, agentes aromatizantes, agentes lubricantes (como talco, estearato de magnesio y aceite mineral), agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, 15 agentes conservantes como metil- y propilhidroxibenzoatos, agentes edulcorantes y/o agentes saborizantes.

[0092] Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser líquidos, con las composiciones que son, por ejemplo, un jarabe oral o líquido inyectable. Las composiciones en forma sólida o líquida pueden incluir un agente que se una al componente(s) activo(s) y por lo tanto ayuda a la administración de los componentes activos. Los 20 agentes adecuados que pueden actuar en esta capacidad incluyen un anticuerpo monoclonal o policlonal, una proteína o un liposoma.

[0093] Alternativamente, la composición farmacéutica de la presente invención puede consistir en unidades de dosificación gaseosas, por ejemplo, puede estar en forma de aerosol útil, por ejemplo, en la administración por 25 inhalación. El término "aerosol" se utiliza para referirse a una variedad de sistemas que oscilan desde sistemas de naturaleza coloidal a sistemas que consisten en paquetes presurizados. La administración se puede realizar mediante un gas licuado o comprimido o mediante un sistema de bombeo adecuado que dispensa los principios activos. Los aerosoles de los compuestos de la invención se pueden suministrar en sistemas monofásicos, bifásicos, o trifásicos con el fin de administrar el principio(s) activo(s). La administración del aerosol incluye el recipiente, 30 activadores, válvulas, subcontenedores, espaciadores necesarios y similares, que juntos pueden formar un kit. Los aerosoles preferidos pueden ser determinados por el experto en la materia, sin experimentación indebida.

[0094] Cuando está destinada a la administración por vía oral, la composición está preferentemente en forma sólida o líquida, en las que se incluyen las formas semisólida, semilíquida, en suspensión o en gel dentro de las 35 formas consideradas en la presente invención como sólidas o líquidas.

[0095] Como composición sólida para la administración por vía oral, la composición se puede formular en polvo, gránulo, comprimido, píldora, cápsula, goma de mascar, oblea o una forma similar. Dicha composición sólida normalmente contiene uno o más diluyentes inertes o vehículos comestibles. Además, puede haber presentes uno o 40 más de los siguientes adyuvantes: aglutinantes como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, o gelatina; excipientes como almidón, lactosa o dextrinas, agentes disgregantes como ácido alginico, alginato sódico, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes como estearato de magnesio o Sterotex; deslizantes como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes como sacarosa o sacarina, un agente aromatizante como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja, y un agente colorante.

[0096] La composición farmacéutica puede estar destinada a la administración por vía tópica, en cuyo caso el vehículo puede comprender de manera conveniente una base de solución, emulsión, ungüento o gel. La base, por ejemplo, puede comprender uno o más de los siguientes: vaselina, lanolina, polietilenglicoles, cera de abeja, aceite mineral, diluyentes como agua y alcohol, y emulsionantes y estabilizantes. Los agentes espesantes pueden estar 50 presentes en una composición farmacéutica para la administración por vía tópica. Si está destinada a la administración por vía transdérmica, la composición puede incluir un parche transdérmico o un dispositivo de iontoforesis.

[0097] La composición puede estar destinada a la administración por vía rectal, por ejemplo en forma de supositorio que se funde en el recto y libera el fármaco. La composición para la administración por vía rectal puede 55 contener una base oleaginosa como excipiente no irritante adecuado. Dichas bases incluyen lanolina, manteca de cacao y polietilenglicol.

[0098] Cuando la composición está en forma de cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina, puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido como polietilenglicol, ciclodextrina o un aceite graso.

[0099] La composición puede estar en forma de líquido, por ejemplo, un elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión. El líquido puede estar destinado a la administración por vía oral o a la administración por inyección, por poner dos ejemplos. Cuando están destinadas para la administración por vía oral, las composiciones preferidas 65 contienen, además de los compuestos de la invención, uno o más de un agente edulcorante, conservantes,

tinte/colorante y potenciador del sabor. En una composición destinada a su administración por inyección, se puede incluir uno o más de un agente tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizante y agente isotónico.

5 **[0100]** Las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención, ya sean soluciones, suspensiones u otras formas similares, pueden incluir uno o más de los siguientes adyuvantes: diluyentes estériles como agua para inyección, solución salina, solución salina preferentemente fisiológica, solución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites fijos como mono o diglicéridos sintéticos que pueden servir como medio disolvente o de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes, agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes como ácido etilendiamintetraacético; tampones como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad como cloruro sódico o dextrosa. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales multidosis fabricados en vidrio o plástico. La solución salina fisiológica es un adyuvante preferido. Una composición farmacéutica inyectable es preferentemente estéril.

15 **[0101]** Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante una metodología muy conocida en materia farmacéutica. Se puede preparar una composición para su utilización de acuerdo con las reivindicaciones prevista para su administración mediante inyección al combinar el compuesto de la Fórmula A con agua para formar una solución. Se puede añadir un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea. Los tensioactivos son compuestos que no interaccionan covalentemente con el compuesto de Fórmula A para así facilitar la disolución o suspensión homogénea del compuesto activo en el sistema de administración acuoso.

25 **[0102]** El "sujeto" al que se le administran los compuestos incluye cualquier animal capaz de desarrollar síntomas de enfermedad inflamatoria que es la sepsis o el asma, y que el experto en la materia determine que necesita (por cualquier razón) dicha administración. Preferentemente, el sujeto es un mamífero. Más preferentemente, el mamífero incluye seres humanos y animales como simios, roedores, ovinos, bovinos, rumiantes, lagomorfos, porcinos, caprinos, equinos, caninos, felinos, aves, etc. Los animales preferidos son miembros del Orden *Rodentia* (por ejemplo, ratón y rata). Por lo tanto, los compuestos de la invención pueden ser administrados por profesionales de la salud humana, así como por veterinarios.

30 **[0103]** En una forma de realización preferida, el sujeto es un ser humano, un ratón, o un cánido. En una forma de realización más preferida, el ratón es un ratón C3H/HeJBir que tiene niveles reducidos de IL-10 en suero. El término "niveles reducidos de IL-10 en suero" se refiere a una cantidad de IL-10 en el suero que es inferior a la cantidad en un animal de control correspondiente tal y como se determina por cualquier procedimiento de análisis estadístico. Los "niveles reducidos de IL-10 en suero" se refieren a una cantidad de IL-10 que es preferentemente al menos un 20% inferior, más preferentemente al menos un 50% inferior, incluso más preferentemente al menos un 90% inferior, a la cantidad en un animal de control correspondiente, y lo más preferentemente está a nivel de fondo de, o es indetectable por, un análisis de transferencia de Western de la IL-10, por inmunofluorescencia de la IL-10, por reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) para la detección de ARNm de IL-10, o por hibridación *in situ* para la detección de ARNm de IL-10. Cuando se mide un nivel de fondo o nivel no detectable del péptido IL-10 o de ARNm, esto puede indicar que la IL-10 no se expresa. Un menor nivel de IL-10 no tiene por qué significar, aunque puede ser el caso, una ausencia absoluta de expresión de IL-10. Como se describe en la presente invención, como modelo para la enfermedad de Crohn es útil un ratón C3H/HeJBir que tiene niveles reducidos de IL-10 en suero.

45 **[0104]** En otro aspecto, el ratón presenta una inmunodeficiencia combinada severa (SCID). Este ratón es útil como modelo para la colitis. En otro aspecto, el ratón es ratón RAG1/2^{-/-} que también es útil como modelo para la colitis (Kawachi y col. (2000), *supra*). En otro aspecto más, el ratón es un ratón MBP-TCR⁺/STAT que es útil como modelo para la esclerosis múltiple en seres humanos. En otra forma de realización, el sujeto es un cánido. Los modelos caninos son aceptados en la técnica como modelos para la sepsis, choque séptico o choque endotóxico (Sevransky y col. (1997) J. Clin. Invest. 99:1966-1973).

PARTE EXPERIMENTAL

55 **[0105]** Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar ciertas formas de realización y aspectos preferidos de la presente invención.

EJEMPLO 1

60 **El piceatanol inhibe el choque tóxico en un modelo animal de ratón para choque séptico**

[0106] El inventor estableció que concentraciones micromolares de piceatanol son capaces de bloquear la expresión génica inducida por lipopolisacárido (LPS) (tales como RANTES, MCP-1, e ISG54). En base a estos resultados, se investigó el efecto del piceatanol sobre el choque endotóxico. Se indujo choque endotóxico mediante inyección intraperitoneal de 1 µg de LPS en ratones de laboratorio en presencia de 20 mg de D-galactosamina (D-

Gal). Este régimen conduce a una tasa de muerte del 90-100% en 9-12 horas después de la inyección. Los siguientes datos de las Tablas 1-3 presentan la tasa de mortalidad a lo largo de 28 días de observación. En un experimento, los animales se trataron intraperitonealmente con piceatanol. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

5 **Tabla 1**

Piceatanol administrado por vía intraperitoneal evita el choque séptico en un modelo animal de alta y baja dosis		
LPS (intraperitoneal)	Piceatanol (μg)	Tasa de mortalidad
1 μg (+D-Gal)	-	14/16
-	1000	0/8
1 μg (+D-Gal)	250	5/12
1 μg (+D-Gal)	500	0/8
1000 μg	-	9/9
1000 μg	500→1000	3/8

[0107] En otro experimento, se administró piceatanol por vía intraperitoneal y/o por vía intravenosa como se muestra en la Tabla 2.

10

Tabla 2

El piceatanol administrado por vía intraperitoneal y/o intravenosa evita el choque séptico en el modelo animal de alta y baja dosis		
LPS + D-Gal (ip)	Piceatanol (μg)	Tasa de mortalidad
1 μg	-	10/12
-	1000 (ip)	0/6
-	1000 (iv)	0/2
1 μg	250 (ip)	3/8
1 μg	400 (ip)	0/2
1 μg	250 (iv)+250 (ip)	0/6

15

Los datos de las Tablas 1 y 2 demuestran que el piceatanol presenta muy baja toxicidad *in vivo*. Los ratones que habían recibido piceatanol solo no mostraron signos de toxicidad aguda (es decir, en las 2 horas siguientes a la inyección), incluso a las dosis más altas (1 mg de piceatanol, por vía intraperitoneal o intravenosa). Todos los animales que recibieron piceatanol (con o sin la posterior inyección de LPS) han sido controlados durante varias semanas, y hasta el momento tampoco han presentado signos de toxicidad retardada. Los datos también muestran que una sola administración de piceatanol por cualquiera de las vías intravenosa o intraperitoneal redujo significativamente la muerte asociada al choque endotóxico, y que la administración intravenosa e intraperitoneal combinadas de piceatanol proporcionó una protección de hasta el 100% contra el choque endotóxico.

20

[0108] En otro experimento, se administró 1 mg de LPS por vía intraperitoneal. Antes del tratamiento con LPS se administró piceatanol o 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno (TMP) por vía intraperitoneal, con algunos ratones que recibieron dosis subcutáneas de piceatanol o TMP tras la administración de LPS. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

25

Tabla 3

El piceatanol y 3,3'4'5 tetrametoxi-estilbeno (TMP) administrados por vía intraperitoneal y/o subcutánea evita el choque séptico en un modelo animal a dosis elevadas (1000 μg de LPS) y dosis bajas (1 μg LPS + D-Gal)		
Tabla 3		
	Modelo de dosis baja	Modelo de dosis elevada
LPS solo	63 muertos/72 total, 88%	41 muertos/48 total, 85%
LPS + Piceatanol		
400 μM	10 muertos/21 total, 48%	
1000 μM	7 muertos/20 total, 35%	
LPS + TMP		
1000 - 1250 μM	9 muertos/24 total, 38%	
LPS + Piceatanol		
1000 μM previo, 500 μM SC posterior cada 12		8 muertos/16 total, 50%
LPS + 1 TMP		
1000 μM previo, 500 μM SC posterior cada 12		7 muertos/16 total, 44%

30

Los resultados de la Tabla 3 muestran que la administración intraperitoneal de piceatanol o 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno antes de la exposición a LPS tenía un efecto profiláctico al reducir significativamente la mortalidad provocada por el choque séptico. Los resultados de la Tabla 3 también demuestran que la administración por vía intraperitoneal de piceatanol o tetrametoxi-piceatanol antes de la exposición a LPS junto con la administración por vía subcutánea de piceatanol o tetrametoxi-piceatanol después de la exposición a LPS redujo significativamente la mortalidad provocada por el choque séptico.

EJEMPLO 2

10 Tratamiento y evaluación de modelos animales de la enfermedad inflamatoria del intestino (EII) – Referencia

[0109] Para evaluar la posible eficacia de los compuestos de la invención se utilizan los siguientes modelos animales de EII, aproximaciones al tratamiento y puntuación de ejemplo de modelos animales tratados.

15 A. Modelos Animales

1. Ratones inactivados genéticamente para IL-10:

[0110] La IL-10 desempeña un papel crucial en la patogénesis de la enfermedad de Crohn (Schreiber, y col. (1995) Gastroenterology 108, nº 5:1434-44). Los pacientes que padecen la enfermedad de Crohn presentan niveles séricos reducidos de IL-10 (Kucharzik, y col. (1995) Clin Exp Immunol 100, nº 3:452-6). Es importante destacar que, ratones deficientes en IL-10 desarrollan colitis espontáneamente a la edad de 3 meses (Davidson, y col. (1996) J. Exp. Med. 184, nº 1:241-51; Madsen, y col. (2001) Clin Invest Med 24, nº 5:250-7). Aunque la deficiencia en IL-10 desencadena claramente la aparición de la EII, otros factores genéticos contribuyen a la progresión de la enfermedad. Esto se evidencia por el hecho de que ratones C3H/HeJBir deficientes en IL-10 (Jackson Laboratories, Maine, EE.UU.) desarrollaron colitis de inicio temprano en contraste con ratones C57BL/6J deficientes en IL-10. Se utilizarán ratones C3H/HeJBir deficientes en IL-10 disponibles en el mercado puesto que estos animales desarrollan colitis de forma espontánea, este modelo requiere una manipulación experimental mínima, y así es eficaz para la evaluación inicial de los compuestos de prueba. Este modelo animal permite evaluar si los compuestos de prueba detienen la progresión de la enfermedad mientras los animales se encuentran en tratamiento.

2. Transferencia adoptiva de células CD4⁺CD45RB^{hi}

[0111] El desarrollo de la colitis en este modelo se basa en la transferencia de células CD4⁺CD45RB^{hi} aisladas a partir de ratones de tipo silvestre en destinatarios SCID o RAG1/2^{-/-} [Jong y col. (2001) Nature Immunology 2 (11):1061-1066] como se ha descrito por Kawachi y col. (Kawachi, y col. (2000) BBRC 268, nº 2:547-52). Brevemente, se pueden aislar los bazo de ratones CB-17 de tipo silvestre (Taconic), y células CD4⁺ enriquecidas por el agotamiento negativo con anticuerpos B220, CD8⁺ y Mac-1 en el sistema MACS, y se pueden aislar células CD4⁺CD45RB^{hi} de la población de células CD4⁺ enriquecidas mediante clasificación FACS (UCSD Flow cytometry core). De seis a ocho semanas después de la transferencia de las células CD4⁺CD45RB^{hi} en ratones CB-17 SCID (Taconic), los animales desarrollan colitis severa. En contraste con los ratones del modelo deficiente en IL-10 descritos anteriormente, este modelo proporciona un modelo de enfermedad autoinmune que no se basa en un defecto genético, lo que permite la determinación no sólo de si el tratamiento con el compuesto de prueba produce la supresión de la progresión de la enfermedad, sino también si da lugar a la curación de la colitis en estos animales. Por lo tanto, este modelo es útil para confirmar y ampliar los resultados obtenidos con el modelo de ratón deficiente en IL-10.

B. Tratamiento de los animales

[0112] Se observaron ratones deficientes en IL-10 para la aparición de la EII (~3 meses). Los animales que muestran una pérdida de peso de >10% y parecen heces sueltas/sangrado serán utilizados en el estudio. El grupo de tratamiento (60 animales; 20 animales por compuesto) recibirá 1 mg de piceatanol, resveratrol o TMP por vía subcutánea (sc) en PBS, diariamente (Esta es la dosis que se ha encontrado ser eficaz en la sepsis y modelos de EAE. Una vez establecido un efecto de los fármacos, identificaremos la dosis eficaz más baja para cada uno de los tres compuestos). Los controles (20 animales) recibirán el mismo volumen de PBS. Todos los animales serán objeto de seguimiento y se pesarán todos los días. En el momento en el que los animales control evolucionen hacia la fase moribunda y deban ser sacrificados, la mitad de los animales (seleccionados aleatoriamente) de cada grupo de tratamiento también se sacrificarán para su análisis histológico. El resto de los ratones tratados se mantendrán bajo supervisión continua hasta que evolucionen a la fase moribunda, pero no más de 60 días.

[0113] Una vez que se ha determinado que un compuesto de prueba tiene potencial para inhibir la progresión de la EII en el modelo deficiente en IL10, confirmaremos adicionalmente los resultados en el modelo de transferencia de células CD4⁺CD45RB^{hi}. Veinte animales receptores de las células CD4⁺CD45RB^{hi} que cumplen con los criterios de inclusión que figuran más arriba para la EII recibirán inyecciones sc diarias con el compuesto de prueba que se encuentra activo en el modelo deficiente en IL10. Diez animales de control recibirán un volumen igual de PBS. En el

momento en el que los animales de control evolucionen hacia la fase moribunda y deban ser sacrificados, la mitad de los animales (seleccionados aleatoriamente) del grupo tratado también se sacrificarán para su análisis histológico. El resto de los ratones tratados se mantendrán bajo supervisión continua hasta que evolucionen a la fase moribunda. Si no se produce dicha progresión, el tratamiento se detendrá después de 60 días, y los animales seguirán en observación para determinar si se reanudan los procesos inflamatorios.

[0114] Aunque la evaluación de los compuestos de prueba fue más eficaz en el modelo deficiente en IL-10 después de la administración parenteral en el modelo de transferencia de células CD4⁺CD45RB^{hi}, al mismo tiempo someteremos a ensayo la eficacia de los compuestos de prueba después de la administración por vía oral en ratones deficientes en IL-10. Estos experimentos se realizarán de manera idéntica a lo descrito anteriormente para la aplicación sc, excepto que los compuestos de prueba se administrarán por vía oral. Nos ceñiremos a la dosificación ejemplar de 1 mg al día con otros compuestos. No obstante, aunque el inventor espera una disponibilidad sistémica reducida de los fármacos después de la administración por vía oral (por ejemplo, la tasa de absorción intestinal notificada para el resveratrol es del ~20%), la concentración local más elevada del compuesto de prueba en el intestino como lugar de la inflamación puede compensarla, y de hecho puede ser incluso ventajosa.

C. Puntuación y análisis de la enfermedad

[0115] Todos los animales del estudio serán observados y pesados a diario. Además, los ratones estarán controlados para signos de heces sueltas o diarrea, al igual que para sangrado rectal.

[0116] El análisis histopatológico de las secciones proximales, medias y distales del colon será llevada a cabo por el UCSD Pathology Core Facility. Este enfoque no sólo facilitará la evaluación asequible de las secciones tisulares por un patólogo con experiencia, sino que también garantizará la asignación de los grados de forma ciega. La actividad de la enfermedad se puede puntuar siguiendo los siguientes criterios de ejemplo.

Puntuación	ANIMALES VIVOS			HISTOLOGÍA		
	Pérdida de peso	Deposiciones	Sangrado	Peso del colon (mg/cm)	Daño de la cripta	Inflamación (% del área afectada)
1	0-5%	Normal	Normal	< 45	Intacta	0-15%
2	5-15%	Sueltas	Oculto	45 - 55	Pérdida de 2/3 basales de las criptas	15-50%
3	> 15%	Diarrea	Sangrado profuso	> 55	Erosión severa	> 50%

EJEMPLO 3

El piceatanol inhibe la encefalomiелitis autoinmune (EAE) en un modelo de ratón para la esclerosis múltiple en seres humanos (EM) – Referencia

[0117] La encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) representa un modelo murino para la esclerosis múltiple, un trastorno autoinmune desmielinizante mediado por células TH1. En estos modelos, ratones deficientes en STAT1 (Jackson Laboratories, Maine, EE.UU.) se cruzaron con ratones que portan un receptor de células T transgénico contra la proteína básica de mielina (MBP) [Lafaille y col. (1994) Cell 78 (3): 399-408]. Los ratones MBP-TCR⁺/STAT1⁻ resultantes, cuando se tienen unos antecedentes H2b/u o H2u/u desarrollan parálisis espontánea. Normalmente, en este sistema transgénico, la enfermedad evoluciona desde los primeros signos de parálisis de las patas traseras (nivel 2) hasta la fase moribunda de la parálisis letal (nivel 5) en 4-5 días.

[0118] Tres ratones con claros signos de parálisis en las patas fueron inyectados sc con 1 mg de piceatanol cada 48 horas (Figura 10). Bajo este régimen estos animales sobrevivieron durante 30 días, momento en el que se detuvo la administración de piceatanol. Diez días más tarde los animales habían sucumbido a parálisis completa y murieron (mientras que los animales transgénicos no pueden curarse debido a su defecto genético, la enfermedad se detuvo por completo durante la administración de piceatanol). Estos hallazgos demuestran que el piceatanol es muy eficaz en el tratamiento de la enfermedad autoinmune a modo de ejemplo de la esclerosis múltiple.

EJEMPLO 4

El piceatanol reduce la infiltración de linfocitos y eosinófilos en un modelo animal de ratón para el asma

[0119] Los ratones (8 animales) se inmunizaron mediante inyección intraperitoneal (ip) de ovoalbúmina después de 2 semanas. La solución de OA se administró en el conducto nasal por inhalación sin (4) o con (4) régimen

simultáneo de piceatanol (1 mg por vía intraperitoneal al día). La Figura 11 muestra que la administración de piceatanol produjo una reducción significativa en la infiltración tanto de linfocitos como eosinófilos en los pulmones. Esto demuestra que el piceatanol ejemplar es útil en el tratamiento del asma.

- 5 **[0120]** De lo anterior, está claro que la invención proporciona composiciones y procedimientos para su uso en la prevención, mejora, y tratamiento de la sepsis y el asma mediante la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto purificado de la Fórmula A, como se define en las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto purificado seleccionado del grupo que consiste de 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno, 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno, y 3,4',5-trimetoxi-estilbeno para su uso en el tratamiento de la sepsis.
- 5 2. Un compuesto purificado seleccionado del grupo que consiste en piceatanol, 3,3',4',5-tetrametoxi-estilbeno, 3,3',4',5-tetraetoxi-estilbeno para su uso en el tratamiento del asma.
- 10 3. El compuesto para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho compuesto se formula para la administración a un ser humano, un ratón, o un cánido.
4. El compuesto para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho compuesto se formula para la administración por vía parenteral, oral, intraperitoneal, o nasal.
- 15 5. El compuesto para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho compuesto se formula para su administración antes, simultáneamente con, o después de la manifestación de uno o más síntomas de dicha enfermedad.

Figura 1

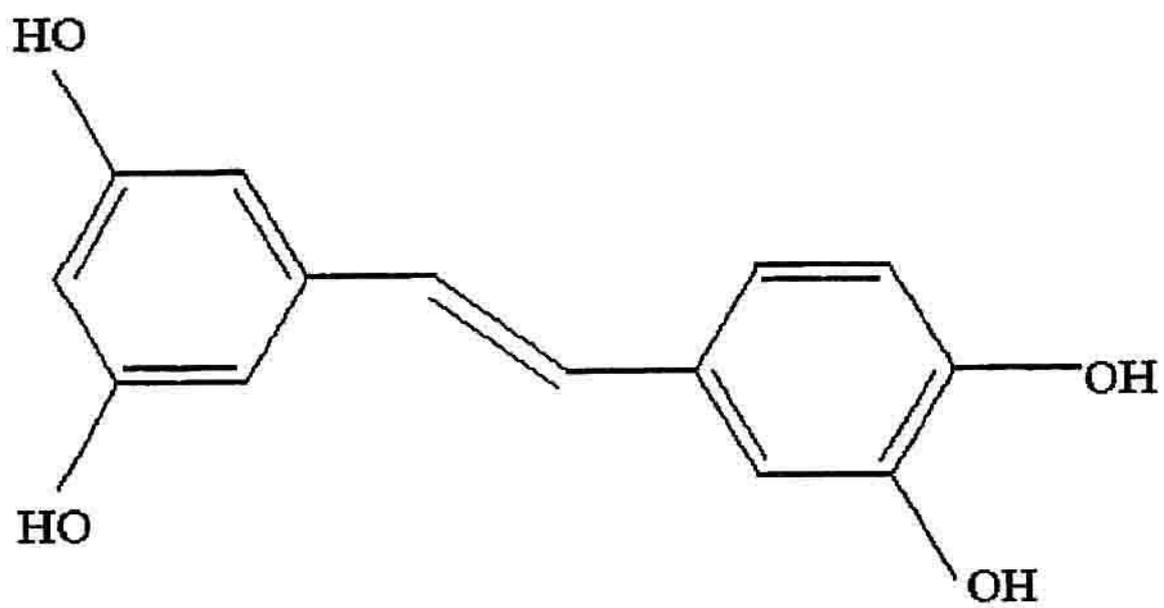


Figura 2

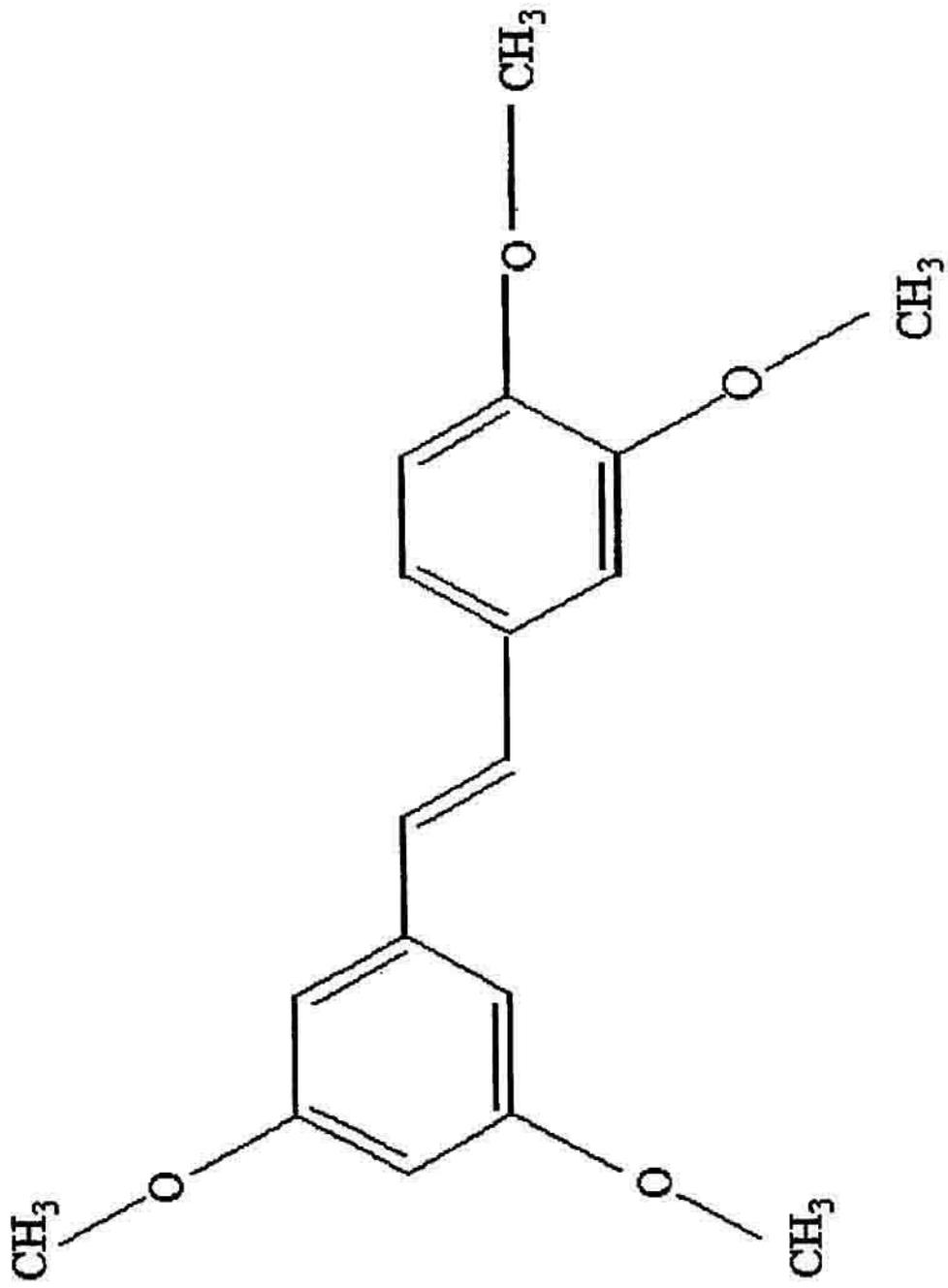


Figura 3

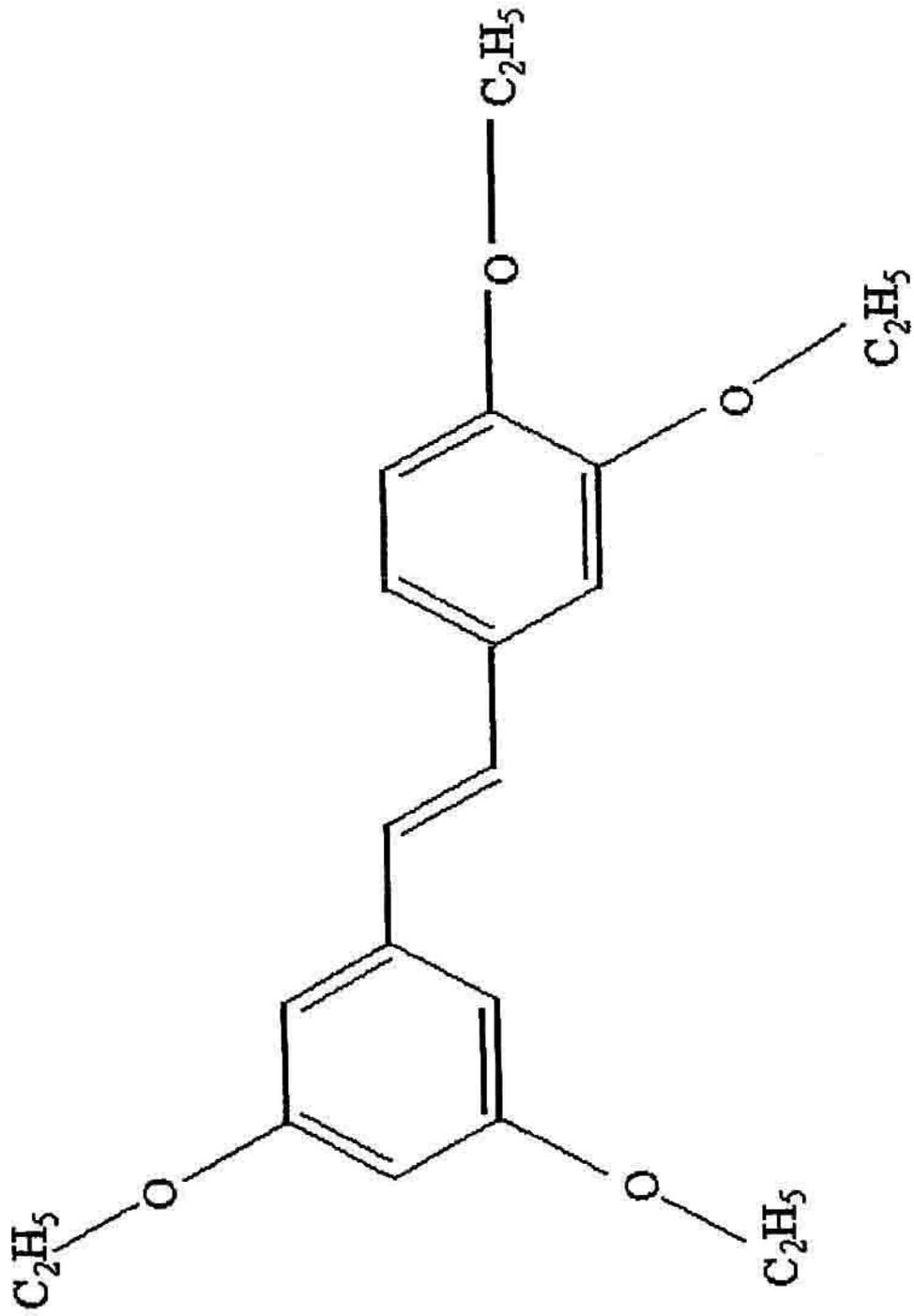


Figura 4 - Referencia

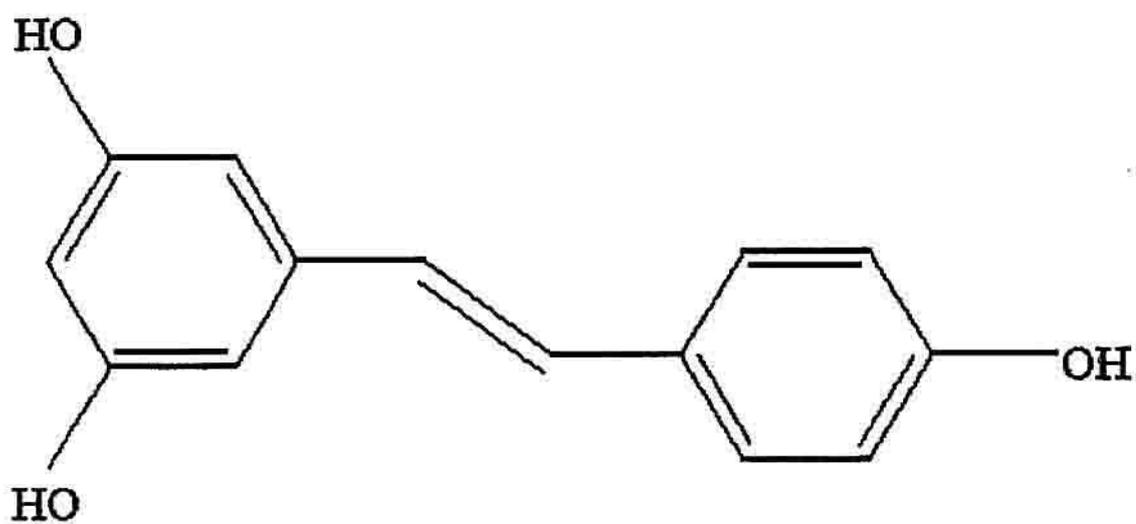


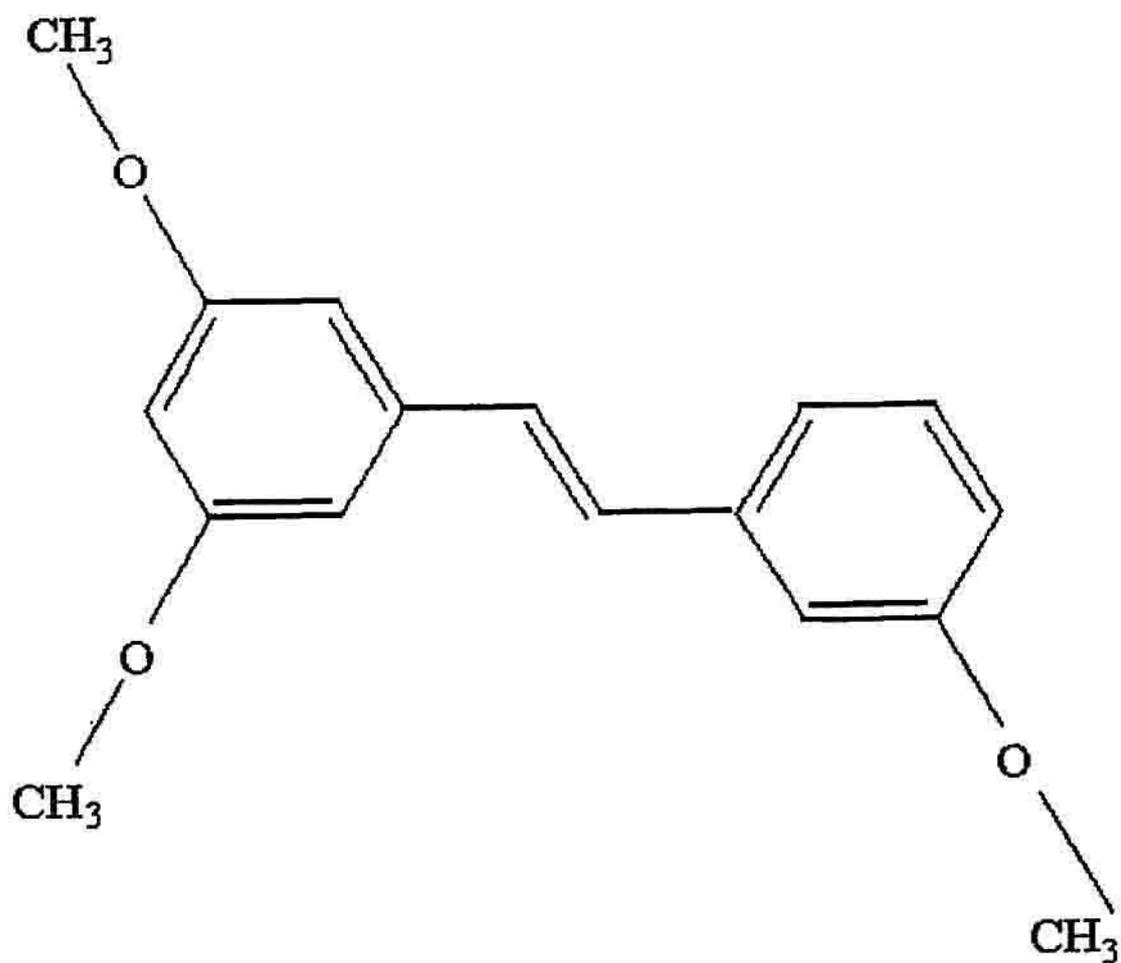
Figura 5

Figura 6 - Referencia

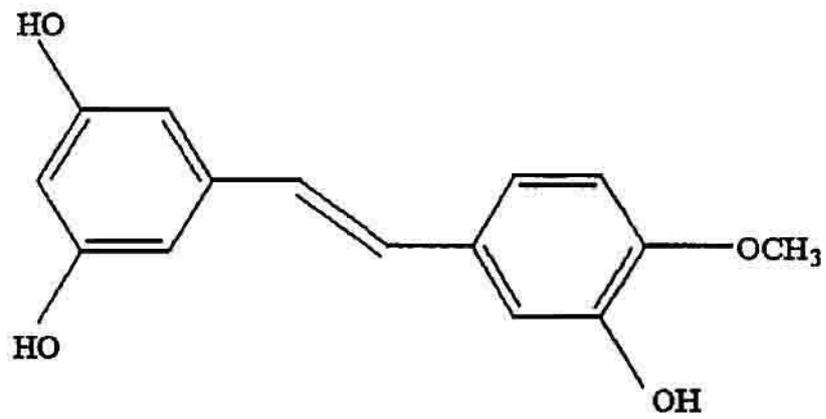


Figura 7 - Referencia

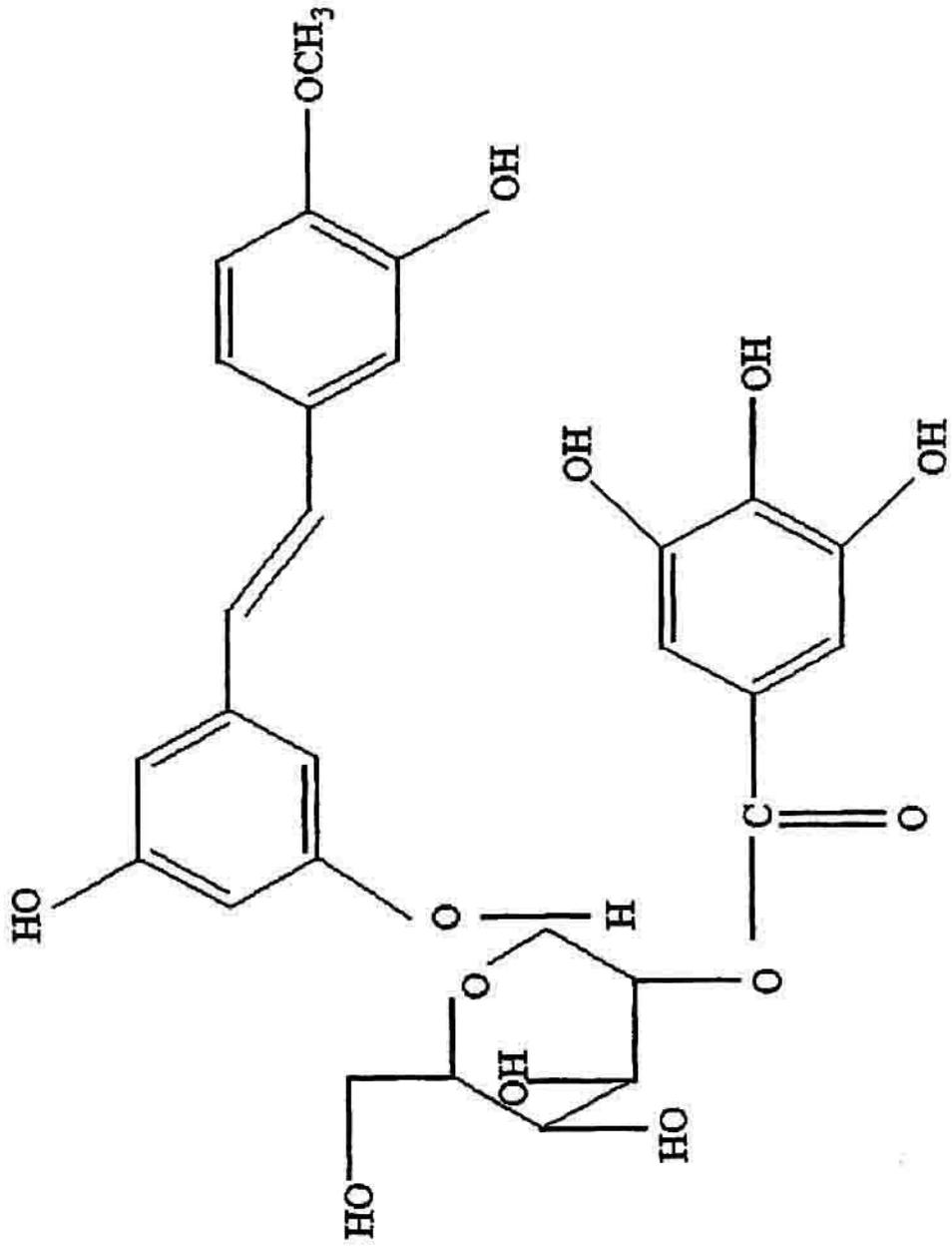


Figura 8 - Referencia

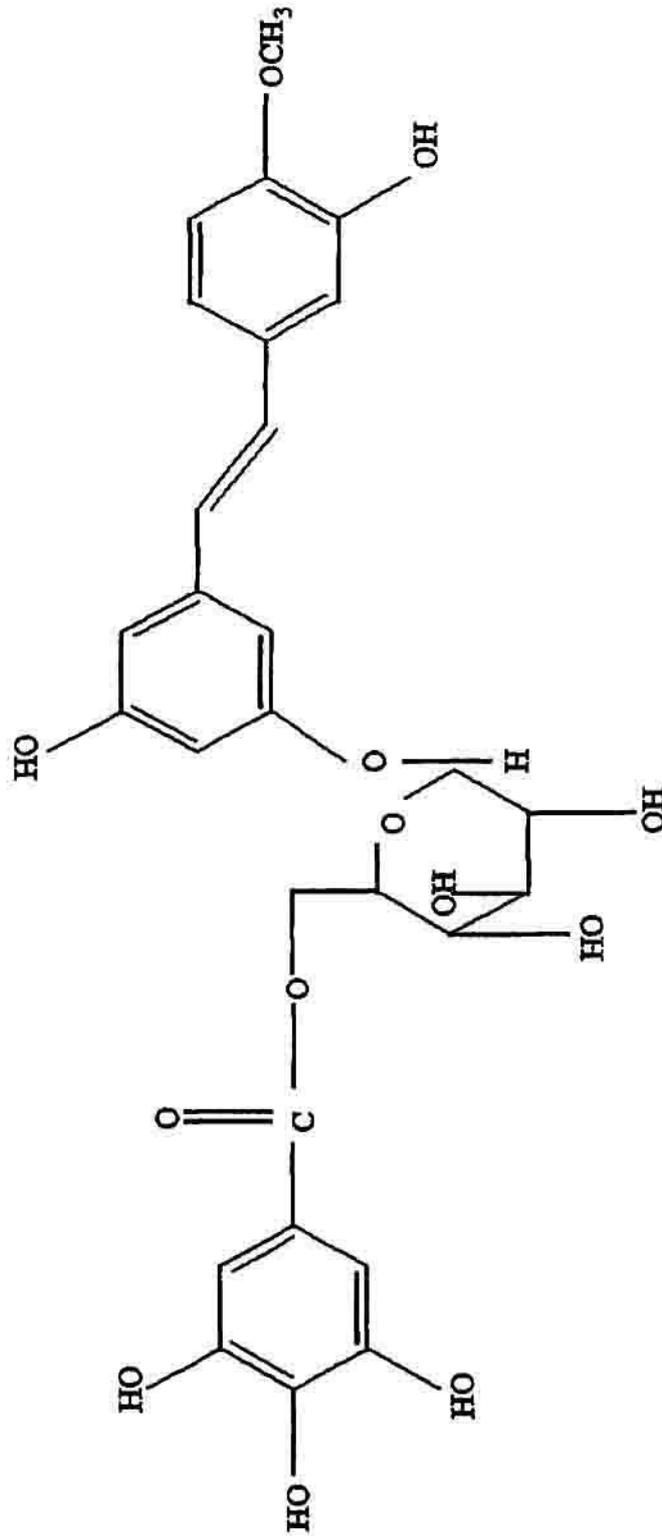


Figura 9 - Referencia

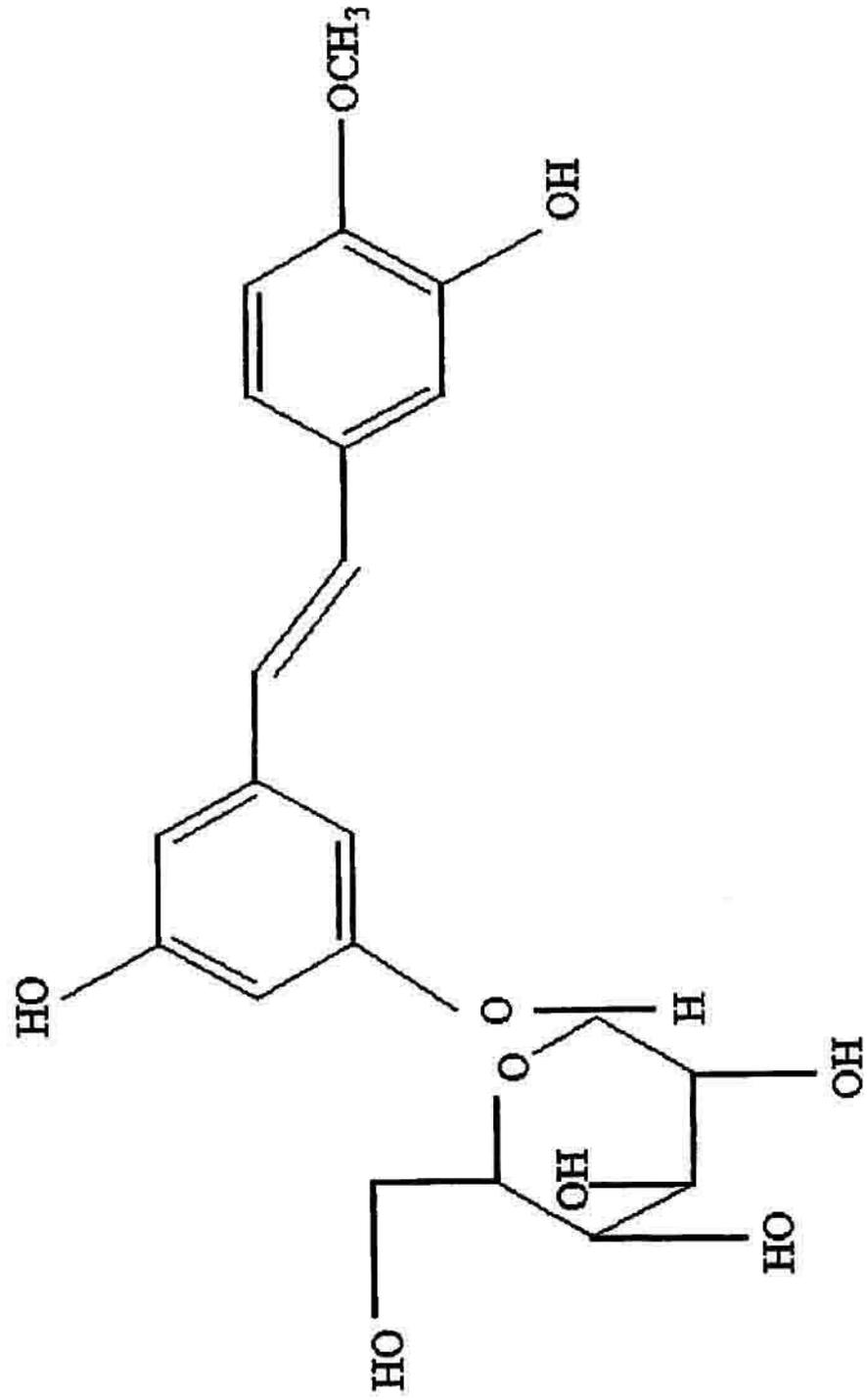


Figura 10

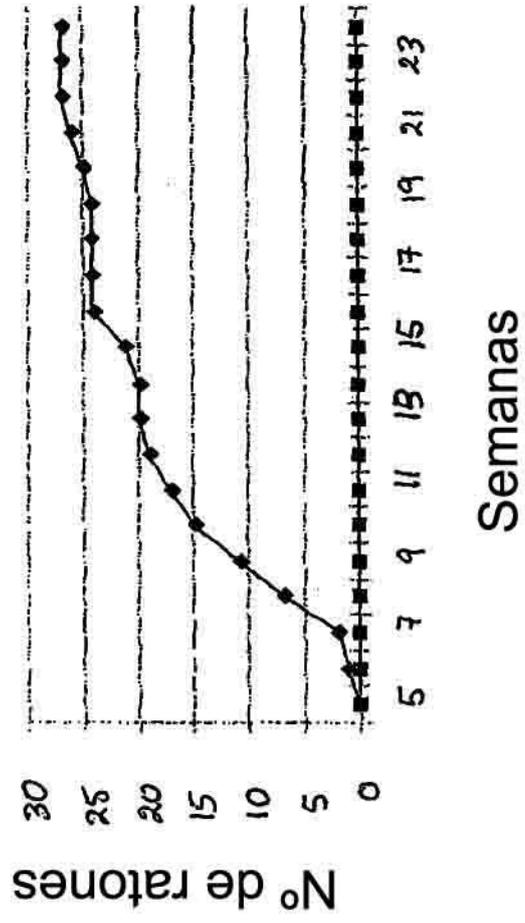


Figura 11

