

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 474 890**

51 Int. Cl.:

C07C 281/18 (2006.01)

C07D 339/08 (2006.01)

A61K 31/155 (2006.01)

A61K 31/385 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2007** **E 07848535 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.05.2014** **EP 2121585**

54 Título: **Nuevas aminoguanidinas como ligandos del receptor de melanocortina**

30 Prioridad:

14.12.2006 GB 0624987

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

09.07.2014

73 Titular/es:

ANAMAR AB (100.0%)
Kungsportsavenyen 22
411 36 Göteborg, SE

72 Inventor/es:

LUNDSTEDT, TORBJÖRN;
SEIFERT, ELISABETH;
LEK, PER y
BOMAN, ARNE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 474 890 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

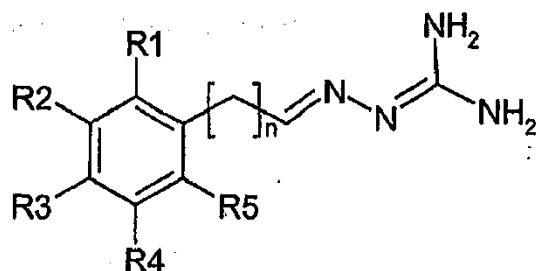
Nuevas aminoguanidinas como ligandos del receptor de melanocortina

La presente invención se refiere a compuestos adecuados para el tratamiento de trastornos de inflamación y autoinmunes asociados con los receptores de melanocortina o sistemas relacionados con ellos, por ejemplo, el de las hormonas estimulantes de los melanocitos.

Se conocen en la técnica un número de péptidos grandes lineales y cíclicos que muestran una gran unión específica a los receptores de melanocortina (MC). También se conocen las propiedades agonistas y/o antagonistas de estos péptidos. Véase por ejemplo "Melanocortin Receptor ligands and methods of using them" por Dooley, Girten y Houghten (documento de patente internacional WO99/21571). Un número de solicitudes de patentes han sido publicadas que describen moléculas pequeñas que muestran actividad en los receptores MC, véase por ejemplo los documentos de patente internacional WO9955679, WO9964002, WO0105401, WO0125192, WO01055107, WO01055109, WO01055106, WO0212178, WO0212166, WO0218327 y WO03009847, WO03061660, WO03031410. El documento de patente internacional WO02/11715 también describe el uso de bencilidenaminoguanidinas e hidroxiguanidinas como ligandos del receptor de melanocortina. Otros ejemplos de guanidinas farmacológicamente activas conocidas en la técnica se describen en el documento de patente de Estados Unidos N° US3982020 y el documento de patente de Gran Bretaña GB1223491. Otras áreas de aplicación son también conocidas en la técnica y se describen en el documento de patente de Estados Unidos N°, 3896332, el documento de patente de Alemania N° DE1165013, y el documento de patente de Estados Unidos N° US3941825. Compuestos de bajo peso molecular también se han revisado en la literatura, véase Sebhat et al., Ann. Rep. Med. Chem. 38, 31-40, 2003, Speake, et al., Expert Opin. Ther. Patents 12, 1631-1638, 2002, Andersson, et al. Expert Opin. Ther. Patents 11, 1583-1592, 2001 y las referencias citadas en el mismo.

Hemos encontrado ahora una serie de bencilidenaminoguanidinas y alilidenaminoguanidinas nuevas que tienen actividad en los receptores MC y que pueden ser utilizadas para tratar los trastornos de inflamación y autoinmunes.

En un aspecto de la presente invención, se proporcionan compuestos de la fórmula general (I). Tales compuestos pueden actuar como ligandos de los receptores de melanocortina y/o para el tratamiento de trastornos en el sistema de la melanocortina:



(I)

en donde n es 0, 1, 2 o 3, y preferiblemente 0 o 1, saturado o insaturado;

al menos uno de R₁-R₅ se selecciona de halógeno:

al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -SR, o dos o más de R₁-R₅ comprenden el grupo de unión -S-(CH₂)_m-S-, donde m es 1, 2 o 3 y

R se selecciona de alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono y arilo que tiene de 6 a 10 átomos de carbono, y en donde cuando R₁ se selecciona de -SR, entonces al menos uno de R₂, R₃ y R₅ se selecciona de halógeno;

y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, halógeno, alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono o hidroxilo, ciano, nitro, trifluoroalquilo o amida; alquilamino, benzoiloxi, nitroxi, fenilo o sulfo;

y sales farmacológicamente aceptables de los mismos.

El grupo de unión cuando está presente es preferiblemente un grupo metilenditio, especialmente preferiblemente un grupo 2,3-, 3-4. o 4,5-metilenditio.

Cuando se utiliza en las definiciones anteriores, el término alquilo significa que incluye grupos de cadena lineal o ramificada de hidrocarburos. Preferiblemente, el "alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono" es un alquilo inferior tal como metilo, etilo, propilo o isopropilo.

5 El término alcoxi se entiende que incluye grupos alcoxi de cadena lineal o ramificada. Preferiblemente, el "alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono" es un alcoxi inferior tal como metoxi, etoxi, propoxi o isopropoxi.

El término halógeno incluye flúor, cloro, bromo y yodo. Preferiblemente, el halógeno es flúor o cloro.

Preferiblemente, el trifluoroalquilo es trifluorometilo, trifluoroetilo, trifluoropropilo o trifluoroisopropilo.

El término "alquilamino" se refiere preferiblemente a grupos que tienen de 2 a 6 átomos de carbono, en particular grupos dialquilamino, y lo más preferiblemente dimetilamino o dietilamino.

10 Los compuestos de fórmula (I) tienen propiedades básicas y, en consecuencia, se pueden convertir en sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables terapéuticamente activas por tratamiento con ácidos apropiados, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como el ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, nítrico y ácido fosfórico, o ácidos orgánicos tales como el ácido acético, propanoico, glicólico, láctico, malónico, succínico, fumárico, tartárico, cítrico, palmoico o ácido para-toluenosulfónico.

15 A la inversa, la forma de sal se puede convertir en la forma de base libre por tratamiento con álcali.

La presente invención se refiere también a las bencilidenaminoguanidinas y alilidenaminoguanidinas de fórmula (I) para uso como un medicamento. Los compuestos de fórmula (I) anterior, pero en la que

20 n es 0, 1, 2 o 3, y preferiblemente 0 o 1, saturado o insaturado, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -SR, o dos o más de R₁-R₅ comprenden el grupo de unión -S-(CH₂)_m-S-, donde m es 1, 2 o 3; R se selecciona de alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono y arilo con de 6 a 10 átomos de carbono,

y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, halógeno, alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono o hidroxilo, ciano, nitro, trifluoroalquilo o amida; alquilamino, benzoiloxi, nitroxilo, fenilo o sulfo;

25 y las sales farmacológicamente aceptables de los mismos,

30 dichos compuestos que se designan en el presente documento como compuestos (IA), se han probado biológicamente en el sistema de melanocortina y, sorprendentemente, se ha demostrado que son capaces de unirse a los receptores de melanocortina, así como de mostrar actividad en los ensayos funcionales. Sorprendentemente tales compuestos han mostrado una menor toxicidad aguda a pesar de que tienen una absorción mayor en comparación con los compuestos conocidos en la técnica anterior.

Los compuestos preferidos de fórmula (IA) son aquellos de fórmula (I) como se ha definido anteriormente, incluyendo las preferencias expresadas en el presente documento.

Algunos de los compuestos de fórmula (IA) de la presente invención son agonistas o antagonistas de un receptor MC específico o de un número de receptores MC, por ejemplo MC1, MC3, MC4 y/o receptores MC5.

35 Los receptores MC se enlazan a una variedad de acciones fisiológicas que se piensa que están mediadas por distintos subtipos de receptores MC. En muchos casos, sin embargo, no está del todo claro cuál de los subtipos es responsable del efecto.

40 Durante mucho tiempo se ha sabido que los péptidos MSH pueden afectar a muchos procesos diferentes tales como la motivación, aprendizaje, memoria, comportamiento (incluyendo de alimentación y sexual), inflamación (incluyendo inmunoestimuladora e inmunosupresora), temperatura corporal, percepción del dolor, presión arterial, frecuencia cardíaca, tono vascular, flujo sanguíneo cerebral, efectos tróficos en diferentes órganos, crecimiento nervioso, desarrollo de la placenta, funciones endocrinas y exocrinas, síntesis y liberación de la aldosterona, liberación de la tiroxina, espermatogénesis, peso ovárico, secreción de prolactina y FSH, efectos sobre otras hormonas, sangrado uterino en las mujeres, secreción de sebo y de feromonas, niveles de glucosa en la sangre, crecimiento fetal intrauterino, así como otros eventos que rodean el parto y la natriuresis (Eberle, AN: The melanotropins: Chemistry, physiology and mechanisms of action. Basel: Karger, Suiza 1988, ISBN 3-8055-4678-5; Gruber, y Callahan, Am. J. Physiol 1989, 257, R681-R694; De Wildt et al, J. Cardiovascular Pharmacology 1995, 25, 898-905), así como la inducción de la natriuresis (Lin et al., Hypertension. 1987, 10, 619-627).

50 También es bien conocido que la acción inmunomoduladora de α -MSH incluye tanto efectos inmunoestimuladores como efectos inmunosupresores. Varios estudios han demostrado que la α -MSH antagoniza los efectos de citocinas

pro-inflamatorias tales como IL-1 α , IL-1 β , IL-6 y TNF α , e induce la producción de la citoquina anti-inflamatoria, IL-10 (para una revisión véase Catania y Lipton, 1993).

Los compuestos de fórmula (I), (IA) y/o sus sales farmacéuticamente aceptables tienen valiosas propiedades farmacológicas, que los hacen útiles para el tratamiento de las inflamaciones, tales como la inflamación relacionada con la producción de óxido nítrico, inflamación relacionada con cantidades incrementadas (cantidades reguladas en aumento) de la sintasa de óxido nítrico inducible, inflamación relacionada con la activación de activadores transcripcionales, inflamación relacionada con el factor nuclear kappa beta, inflamación relacionada con macrófagos, neutrófilos, monocitos, queratinocitos, fibroblastos, melanocitos, células de pigmento y células endoteliales, y la inflamación relacionada con el aumento de la producción y/o liberación de citocinas inflamatorias, tales como por ejemplo, interleucinas, en particular la interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) y el factor α de necrosis tumoral (TNF- α).

En el presente documento, "aumento de la producción" se refiere al aumento de la formación, aumento de la liberación, o aumento de la cantidad de un compuesto endógeno localmente, regionalmente o sistémicamente en un paciente en comparación con la cantidad de dicho compuesto endógeno en un individuo sano. En el presente documento, "regulado en aumento" se refiere a una actividad o cantidad de compuesto incrementada en comparación con la de un individuo sano.

En realizaciones muy específicas de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o (IA) de la invención para la prevención o tratamiento terapéutico de enfermedades inflamatorias de la piel (incluyendo la dermis y epidermis) de cualquier origen, incluyendo enfermedades de la piel que tienen un componente inflamatorio. Ejemplos específicos de esta realización de la invención incluyen el tratamiento de la dermatitis de contacto de la piel, quemaduras solares de la piel, quemaduras de cualquier causa, e inflamación de la piel causada por agentes químicos, soriasis, vasculitis, pioderma gangrenosa, lupus eritematoso discoide, eczema, pustulosis palmo-plantar, y pénfigo vulgar.

También está comprendido por la invención un compuesto de fórmula (I), (IA) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria en el abdomen, que incluye una enfermedad abdominal que tiene un componente inflamatorio. Ejemplos específicos del tratamiento de tal enfermedad con un compuesto de la invención son la gastritis, incluyendo la de origen desconocido, gastritis perniciosa (gastritis atrófica), colitis ulcerosa (colitis ulcerosa), enfermedad de Crohn, esclerosis sistémica, duodeni ulcus, enfermedad celíaca, esofagitis y úlcera ventriculi.

También está comprendido por la invención un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacológicamente aceptable del mismo para el tratamiento de enfermedades inmunológicas sistémicas o generales y/o locales, incluyendo aquellas de naturaleza autoinmune, y un compuesto de fórmula (I) o (IA) o una de sus sales farmacológicamente aceptables para el tratamiento de otras condiciones o enfermedades inflamatorias y/o artríticas de carácter general. Ejemplos específicos incluyen el tratamiento de la artritis reumatoide, artritis soriásica, esclerosis sistémica, polimialgia reumática, granulomatosis de Wegener, sarcoidosis, fascitis eosinofílica, artritis reactiva, enfermedad de Bechterew, lupus eritematoso sistémico, arteritis temporal, enfermedad de Behcet, enfermedad de Burger, síndrome de Goodpasture, granuloma eosinofílico, fibromialgia, miositis, y la enfermedad mixta del tejido conectivo. Incluido en ellos está también la artritis, incluyendo la artritis de origen desconocido.

También se incluye en la invención un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacológicamente aceptable del mismo para el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso periférico y/o central relacionada con la inflamación. Se incluye en este aspecto de la invención el tratamiento de la vasculitis cerebral, esclerosis múltiple, oftalmitis autoinmune y polineuropatía. También comprendido por la invención es un compuesto de fórmula (I), (IA) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo para el tratamiento de una inflamación del sistema nervioso central para prevenir la muerte celular apoptótica. Además, como algunos compuestos muestran una capacidad especial para inducir la regeneración de los nervios, los efectos de los tratamientos positivos se ven a menudo en enfermedades del sistema nervioso central que implican el daño de las células en esta región. Este aspecto de la invención también incluye el tratamiento de lesiones traumáticas en el sistema nervioso central, edema cerebral, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, infecciones bacterianas y víricas en el sistema nervioso central, apoplejía, y hemorragia en el sistema nervioso central.

También comprende la invención un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacológicamente aceptable del mismo para el tratamiento de enfermedades del ojo y de las glándulas lagrimales relacionadas con la inflamación. Ejemplos específicos de tales enfermedades comprenden la uveítis anterior y posterior, vasculitis de la retina, neuritis óptica, neuromielitis óptica, granulomatosis de Wegener, síndrome de Sjögren, episcleritis, escleritis, sarcoidosis que afecta al ojo y policondritis que afecta al ojo.

La invención también se refiere a métodos para la fabricación de compuestos de fórmula (I), (IA) y a preparaciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos de fórmula (I) en mezcla con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.

Algunos de los compuestos de la invención tienen efecto sobre la xantina oxidasa en mamíferos, incluyendo los seres humanos.

Métodos de preparación

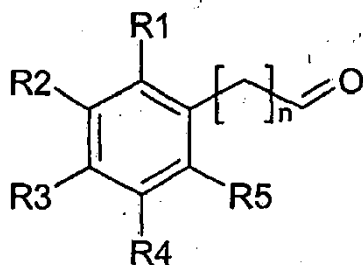
Ejemplos

- 5 Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar pero no a limitar el alcance de la invención, aunque los compuestos nombrados son de particular interés para los fines previstos. Estos compuestos se han designado por un número de código, a:b, donde a significa el número del ejemplo, en donde se describe la preparación del compuesto, y b se refiere al orden del compuesto preparado según ese ejemplo. Así el ejemplo 1:2 significa el segundo compuesto preparado de forma análoga según el Método 1 (véase el ejemplo 1).

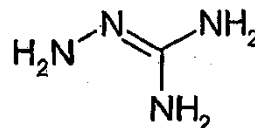
10 Ejemplo 1

Los compuestos que tienen la fórmula general (I) o (IA) en la que n es 0, 1, 2 o 3, saturado o insaturado se pueden preparar por el siguiente método general.

Método 1.



(II)



(III)

- 15 Un compuesto de fórmula (II) en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se definen como anteriormente para la fórmula (IA), se hace reaccionar con aminoguanidina (III) y se obtiene un compuesto de fórmula (I) o (IA). La reacción puede llevarse a cabo en un disolvente orgánico, por ejemplo un alcohol inferior tal como metanol y a temperatura elevada, deseablemente bajo reflujo.

- 20 IR, RMN, EM y el análisis elemental han confirmado las estructuras de los compuestos. Cuando se dan puntos de fusión (pf), éstos están sin corregir.

Preparación del compuesto 1:1

- 25 Se calentó una solución de 2-metil-3-cloro-benzaldehído (1,0 g, 5 mmoles), bicarbonato de aminoguanidina (0,68 g, 5 mmoles) y ácido acético (1 ml), en 15 ml de metanol a reflujo durante 10 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a 0° C y el residuo se separó por filtración. El filtrado se evaporó a vacío y el producto se cristalizó a partir de etanol. El rendimiento del compuesto del título 1:1 fue 1,1 g (70%).

Preparación de los compuestos 1:2

Los compuestos 1:2 - 1:12 se prepararon usando esencialmente el mismo enfoque que para 1:1 utilizando un procedimiento análogo al Método 1. Los compuestos con sus datos son como sigue:

- 30 1:1 Clorhidrato de N-(2-metil-3-clorobencilidenamino)guanidina pf 179-181° C
- 1:2 N-(2-cloro-4-metoxi-3-metilbencilidenamino)guanidina
- 1:4 N-(2-cloro-3-metoxi-4-metilbencilidenamino)guanidina
- 1:5 N-(2-cloro-3,4-dimetilbencilidenamino)guanidina
- 1:6 N-(5-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]ditiin-6-ilmetilenamino)-guanidina
- 1:7 N-(2-metil-3-clorofenilpropilidenamino)guanidina
- 35 1:8 N-(2-cloro-4-metoxi-3-metilfenilpropilidenamino)guanidina

1:10 N-(2-cloro-3-metoxi-4-metiltiofenilpropilidenamino)guanidina

1:11 N-(2-cloro-3,4-dimetiltiofenilpropilidenamino)guanidina

1:12 N-[3-(5-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]ditiin-6-il)-alilidenamino]-guanidina

Ejemplo 2

- 5 Este ejemplo ilustra la potencia de los compuestos de fórmula (I) y sus sales de adición de ácido terapéuticamente activas para el tratamiento de los trastornos mentales.

Prueba 1. Afinidad para el receptor MC1

El ensayo de unión se llevó a cabo esencialmente como se describe por Lunec et al, Melanoma Res 1992; 2; 5-12, utilizando I¹²⁵-NDP-αMSH como ligando.

- 10 Prueba 2. Afinidad para los receptores de MC3, los receptores de MC4 y los receptores de MC5

Los ensayos de unión se llevaron a cabo esencialmente como se describe por Szardenings et al, J Biol. Chem. 1997; 272; 27.943-27.948 y Schiöth et al, FEBS Lett 1997; 410; 223-228 utilizando I¹²⁵-NDP-αMSH como ligando.

Prueba 3. AMPc

- 15 La estimulación de AMPc se llevó a cabo esencialmente como se describe por Schiöth et al, Br J Pharmacol 1998;124; 75-82.

Tabla 1 Afinidad por los receptores MC

Compuesto	Ki (μM)			
	MC1	MC3	MC4	MC5
1:1	0,7	19,7	0,6	19,7
1:3	3,4			

Tabla 1b Influencia sobre AMPc

	MC1c	MC3c	MC4c	MC5c
1:1	1	2	13	1
1:3	0	0	7	0

Ejemplo 3

- 20 Fibroblastos sinoviales

Diseño del estudio: En ratas con artritis inducida por antígeno, la membrana sinovial hiperproliferativa, pannus, fue tomada de la rodilla inflamada en el día cuatro después de la aparición de la enfermedad. El tejido pannus fue cortado en pedazos pequeños en PBS con PEST (100 UI de penicilina, 100 μg/ml de estreptomicina) y Fungizona (2,5 μg/ml) (todos de Invitrogen, Suecia), antes de la incubación en collagenasa (400 U/ml, Worthington, EE.UU.) durante 3 horas a 37° C, 5% de CO₂. Las células se centrifugaron (8 minutos, temperatura ambiente, 1100 rpm.) y se suspendieron en medio RPMI 1640 suplementado con 10% de FCS (Invitrogen, Suecia), PEST y Fungizona y se sembraron en un matraz de 25 cm² a 37° C, 5% de CO₂. Al día siguiente, las células se enjuagaron una vez con medio y después se incubaron. Cuando fueron confluentes, las células se trataron con tripsina durante 1 minuto (0,25% Tripsina con EDTA, Invitrogen, Suecia) se contaron y se sembraron en placas de 96 pocillos, 10000 células/pocillo/200 μl.

Después de 24 horas, el medio se cambió y las células se estimularon con IL-1a recombinante humana, 50 ng/ml (Roche, Suecia). El péptido AM0001 (Schaefer, Dinamarca) fue probado por triplicado en el intervalo de concentración de 50 a 400 μM. Después de 72 horas de incubación a 37° C, 5% de CO₂, el medio se recogió para la medición de NO (reacción de Griess) y la IL-6 se analizó mediante un ELISA, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BD Biosciences, EE.UU.).

Ejemplo 4

Explantos de cartílago

El efecto de los compuestos sobre la liberación de NO en el cartílago estimulado por IL-1 se midió como se describe a continuación.

- 5 Una nariz de bovino pelada (de vaca de 18-24 meses de edad) se recogió en el matadero de Hörby (Team Ugglarp, Suecia). El septo dentro de la nariz se cortó y se retiró la mucosa y el pericondrio antes de que el cartílago se colocara en PBS con PEST (100 UI de penicilina, 100 mg/ml de estreptomicina) y 2,5 µg/ml de Fungizona (todos de Invitrogen, Suecia) durante 2 horas a temperatura ambiente. Piezas de 2 mm fueron extraídas del cartílago. Cada
- 10 pieza fue colocada en una placa de cultivo celular de 24 pocillos (Falcon, Suecia) que contenía 1 ml de medio de cultivo celular, Hams F12 (Invitrogen, Suecia) suplementado con 10 µg/ml de BSA, 25 mg/ml de ascorbato (ambos de Sigma, Suecia), PEST (100 UI de penicilina, 100 mg/ml de estreptomicina) y 2,5 µg/ml de Fungizona. Después de 24 horas, el medio se cambió y las piezas de cartílago fueron estimuladas con IL-1a recombinante humana, 10 ng/ml (Roche, Suecia). Los compuestos de ensayo se probaron por triplicado a una concentración adecuada.

- 15 El tejido de cartílago fue incubado por otros seis días, el medio se cambió cada tres días. En cada ocasión se recogió el medio para la medición de NO (reacción de Griess).

Ejemplo 5

Efectos antiinflamatorios,

Control

- 20 Ratones hembra BALB/c (peso 20-22 g) se sensibilizaron por tratamiento del abdomen afeitado con 30 µl de 2,4-dinitrofluorobenceno (DNFB) al 0,5%. Después de 4 días fueron enfrentados con 10 µl de DNFB al 0,3% en la pata. Las patas de los ratones no enfrentados sirvieron como control. Veinticuatro horas después del último enfrentamiento, se determinaron las diferencias en el peso de las patas como un indicador de la inflamación (edema de la pata).

Control de prednisolona

- 25 Se trató a los ratones como al control pero se les inyectó adicionalmente por vía intraperitoneal (IP) prednisolona (20 mg/kg) dos horas antes de la sensibilización (día 0) y la misma dosis se administró repetidamente después de la sensibilización durante cuatro días consecutivos. La inhibición del edema de la pata se midió como se describió anteriormente.

Estudio de nuevos compuestos

- 30 Se trataron los ratones como al control pero se les inyectó adicionalmente IP con varias dosis (0,05, 0,15 o 0,25, 0,375, 0,5, 0,75 y en estudios posteriores también 1,5, 3 y, ocasionalmente, 6 mg/kg) de cada uno de los compuestos dos horas antes de la sensibilización (día 0) y la misma dosis se administró repetidamente después de la sensibilización durante cuatro días consecutivos. La inhibición del edema de la pata se midió como se describió anteriormente. Grupos que contenían al menos 10 ratones cada uno se usaron para todos los experimentos.
- 35 Los análisis de la sangre se llevaron a cabo usando el QBC® Autoread™ Plus y QBC®, Accutube System (Becton Dickinson). En todos los casos se recogieron muestras de sangre veinticuatro horas después del último enfrentamiento.

Ejemplo 6

Artritis inducida por el antígeno (AIA)

- 40 La artritis inducida por el antígeno (AIA) en la rata es un modelo de monoartritis bien reproducible.

Una inyección intraarticular de albúmina de suero bovino metilada del antígeno (MBSA) en la articulación de la rodilla en los animales sensibilizados induce una respuesta inflamatoria. La formación de tejido de pannus, que invade la membrana sinovial, se extiende sobre el cartílago articular y crece en el hueso, lo que conduce a la erosión del tejido y la remodelación.

- 45 AIA responde bien a los compuestos utilizados para el tratamiento clínico estándar de la artritis humana. Por lo tanto este modelo es apropiado para la evaluación de los efectos de los nuevos compuestos sobre la inflamación de las articulaciones y degradación del cartílago/hueso. Los compuestos de ensayo se pueden administrar local o sistémicamente. Las características de la artritis pueden ser seguidas y evaluadas por la medición de la inflamación de la articulación de la rodilla, por puntuación funcional y análisis histológico. Dado que es un modelo de

monoartritis, el nivel de los marcadores séricos inflamatorios puede ser difícil de detectar. El modelo de AIA también sirve como una fuente para la producción de sinoviocitos para cultivo in vitro, con el fin de obtener una mayor comprensión de la composición de la matriz sinovial y para los propósitos de cribado de fármacos.

Ejemplo 7

5 Artritis inducida por colágeno (CIA)

La artritis inducida por colágeno (CIA) en el ratón es el modelo experimental más común para la artritis reumatoide, con varias características en común con la enfermedad humana. El colágeno tipo II (CII) autólogo o heterólogo emulsionado en adyuvante completo de Freund induce una poliartritis, con edema del tejido sinovial, proliferación celular sinovial, infiltración de células inflamatorias y erosiones del cartílago y el hueso. Los compuestos de ensayo se deberían administrar sistémicamente. Las características de la poliartritis pueden ser evaluados por la puntuación de los signos de artritis, análisis histológico y por mediciones de biomarcadores de suero. El contenido mineral del hueso y la densidad también pueden ser analizados por densitometría de ratón (PIXIMUS).

Las formas adecuadas de la preparación farmacéutica para la administración incluyen, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, soluciones, jarabes, o emulsiones. El contenido del compuesto(s) farmacéuticamente eficaz(es) en cada caso debe estar deseablemente en el intervalo de 0,1 a 5 % en peso, de la composición total.

Las preparaciones pueden administrarse por vía oral en la forma de un comprimido, como un polvo, como un polvo en una cápsula (por ejemplo, una cápsula de gelatina dura), como una solución o suspensión.

Es preferible que los compuestos de fórmula (I) o (IA) se administren por vía oral. Comprimidos adecuados pueden obtenerse, por ejemplo, mezclando la sustancia(s) activa (s) con vehículos, diluyentes o excipientes conocidos, tales como carbonato de calcio, fosfato de calcio o lactosa, disgregantes tales como almidón de maíz o ácido algínico, aglutinantes tales como almidón o gelatina, lubricantes tales como estearato de magnesio o talco, y/o agentes para retrasar la liberación, tales como carboximetilcelulosa, ftalato de acetato de celulosa, o acetato de polivinilo. Los comprimidos también pueden comprender varias capas.

Los comprimidos recubiertos se pueden preparar adecuadamente por revestimiento de núcleos producidos de manera similar a los comprimidos con sustancias normalmente utilizadas para revestimientos de comprimidos, por ejemplo Kollidon o goma laca, goma arábiga, talco, dióxido de titanio o azúcar. El recubrimiento del comprimido puede consistir en un número de capas para conseguir la liberación retardada, posiblemente utilizando los excipientes mencionados anteriormente para los comprimidos.

Los jarabes que contienen las sustancias activas o combinaciones de las mismas de acuerdo con la invención pueden contener adicionalmente un edulcorante tal como la sacarina, ciclamato, glicerol o azúcar y un potenciador del sabor, por ejemplo, un aromatizante tal como la vainillina o extracto de naranja. También pueden contener adyuvantes de suspensión o espesantes tales como carboximetilcelulosa de sodio, agentes humectantes tales como, por ejemplo, productos de condensación de alcoholes grasos con óxido de etileno, o conservantes tales como *p*-hidroxibenzoatos.

Las cápsulas que contienen una o más sustancias activas o combinaciones de sustancias activas pueden por ejemplo ser preparadas mezclando las sustancias activas con vehículos inertes tales como lactosa o sorbitol y empaquetándolos en cápsulas de gelatina. Los supositorios se pueden hacer, por ejemplo, mezclándolas con vehículos previstos para ello, tales como grasas neutras o polietilenglicol o los derivados de los mismos.

Los excipientes que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, agua, disolventes orgánicos farmacéuticamente aceptables, tales como parafinas (por ejemplo fracciones de petróleo), aceites vegetales (por ejemplo, cacahuete o aceite de sésamo), alcoholes mono-o polifuncionales (por ejemplo etanol o glicerol), vehículos tales como por ejemplo, polvos minerales naturales (por ejemplo caolin, arcillas, talco, tiza), polvos minerales sintéticos (por ejemplo, ácido silícico y silicatos muy dispersos), azúcares (por ejemplo azúcar de caña, lactosa y glucosa), emulsionantes (por ejemplo lignina, aguas sulfatadas, metilcelulosa, almidón y polivinilpirrolidona) y lubricantes (por ejemplo estearato de magnesio, talco, ácido esteárico y laurilsulfato de sodio).

Para la administración oral, los comprimidos pueden contener, además de los vehículos anteriormente mencionados, aditivos tales como el citrato sódico, carbonato cálcico y fosfato dicálcico junto con diferentes aditivos tales como almidón, preferiblemente almidón de patata, gelatina y similares. Por otra parte, lubricantes tales como el estearato de magnesio, lauril sulfato sódico y talco se pueden utilizar al mismo tiempo para el proceso de formación de comprimidos. En el caso de suspensiones acuosas, las sustancias activas se pueden combinar con diversos potenciadores de sabor o colorantes, además de los excipientes mencionados anteriormente.

Ejemplo 8

Las siguientes formulaciones son representativas para todos los compuestos farmacológicamente activos de la invención.

Ejemplo de una preparación que comprende una cápsula

	<u>Por cápsula</u>
Ingrediente activo, como sal	5 mg
Lactosa	250 mg
Almidón	120 mg
Estearato de magnesio	5 mg
Total Hasta	380 mg

- 5 En caso de cantidades más grandes de ingrediente activo, la cantidad de lactosa usada puede reducirse.

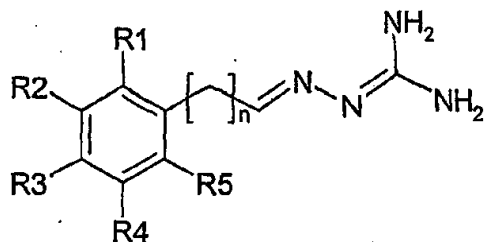
Ejemplo de una formulación de comprimido adecuada.

	<u>Por comprimido</u>
Ingrediente activo, como sal	5 mg
Almidón de patata	238 mg
Sílice coloidal	10 mg
Talco	20 mg
Estearato de magnesio	2 mg
Solución acuosa al 5% de gelatina	25 mg
Total hasta	300 mg

- 10 Una solución para la administración parenteral por inyección se puede preparar con una solución acuosa de una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable soluble en agua de la sustancia activa preferiblemente en una concentración de 0,1% a aproximadamente 5% en peso. Estas soluciones pueden contener también agentes estabilizantes o agentes tamponantes.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I)



(I)

en donde n es 0, 1, 2 o 3, saturado o insaturado;

- 5 al menos uno de R₁ a R₅ representa halógeno;

al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es-SR, o dos o más de R₁-R₅ comprenden el grupo de unión -S-(CH₂)_m-S-, donde m es 1, 2 o 3 y

R se selecciona de alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, y arilo que tiene de 6 a 10 átomos de carbono

- 10 y en donde cuando R₁ es-SR, entonces al menos uno de R₂, R₃ o R₅ se selecciona de halógeno;

y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, halógeno, alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono o hidroxí, ciano, nitro, trifluoroalquilo o amida; alquilamino, benzoiloxi, nitroxi, fenilo o sulfo;

y sales farmacológicamente aceptables de los mismos.

- 15 2. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde n es 0 o 1.

3. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el grupo de unión cuando está presente es un grupo metilenditio, particularmente preferiblemente un grupo 2,3-, 3-4- o 4,5-metilenditio.

4. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el grupo de unión cuando está presente es un grupo 2,3-, 3-4- o 4,5-metilenditio.

- 20 5. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el halógeno es flúor o cloro.

6. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, que tiene una de las fórmulas siguientes:

1:1 N-(2-metiltio-3-clorobencilidenamino)guanidina

1:2 N-(2-cloro-4-metoxi-3-metiltiobencilidenamino)guanidina

- 25 1:4 N-(2-cloro-3-metoxi-4-metiltiobencilidenamino)guanidina

1:5 N-(2-cloro-3,4-dimetiltiobencilidenamino)guanidina

1:6 N-(5-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]ditiin-6-ilmetilenamino)-guanidina

1:7 N-(2-metiltio-3-clorofenilpropilidenamino)guanidina

1:8 N-(2-cloro-4-metoxi-3-metiltiofenilpropilidenamino)guanidina

- 30 1:10 N-(2-cloro-3-metoxi-4-metiltiofenilpropilidenamino)guanidina

1:11 N-(2-cloro-3,4-dimetiltiofenilpropilidenamino)guanidina

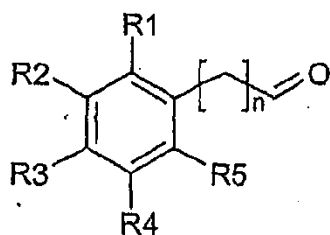
1:12 N-[3-(5-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]ditiin-6-il)-alilidenamino]-guanidina

o una sal farmacológicamente aceptable de los mismos.

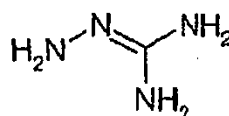
7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se ha reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, junto con uno o más adyuvantes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

5 8. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para uso como un medicamento.

9. Un procedimiento para la producción de un compuesto (I) como se reivindica en la reivindicación 1 o (IA) tal como se define en la reivindicación 10 a continuación que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (III)



(II)



(III)

10 en donde n, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son como se definen en la reivindicación 1 o la reivindicación 10, seguido por formación de la sal, si se desea.

10. Un compuesto de fórmula (IA), que es un compuesto de fórmula (I) como se muestra en la reivindicación 1 pero en el que

n es 0, 1, 2 o 3, y preferiblemente 0 o 1, saturado o insaturado;

15 al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -SR o dos o más de R₁-R₅ comprenden el grupo de unión -S-(CH₂)_m-S-, donde m es 1, 2 o 3;

R se selecciona de alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono y arilo con de 6 a 10 átomos de carbono.

20 y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, halógeno, alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono o hidroxí, ciano, nitro, trifluoroalquilo o amida; alquilamino, benzoiloxi, nitroxí, fenilo o sulfo;

y sales farmacológicamente aceptables de los mismos,

para su uso en el tratamiento de la inflamación.

11. Un compuesto (IA) como se define en la reivindicación 10, para uso en el tratamiento de una condición artrítica.

25 12. Un compuesto (IA) como se define en la reivindicación 11, en donde la condición artrítica es la artritis.

13. Un compuesto (IA) como se define en la reivindicación 10, para su uso en la inducción de la regeneración de los nervios centrales.

14. Un compuesto (IA) como se define en la reivindicación 10, para su uso en el tratamiento del dolor.

30 15. El uso de un compuesto de fórmula (IA) tal como se define en la reivindicación 10, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la inflamación, una condición artrítica o para inducir la regeneración de los nervios centrales.