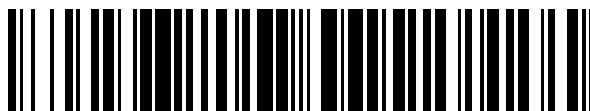


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 577 930**

51 Int. Cl.:

A61K 31/53 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2011** **E 11724228 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016** **EP 2579879**

54 Título: **Derivados de triazina para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1**

30 Prioridad:

09.06.2010 EP 10305611

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

19.07.2016

73 Titular/es:

POXEL (100.0%)
200 avenue Jean Jaurès
69007 Lyon, FR

72 Inventor/es:

FOUQUERAY, PASCALE;
CRAVO, DANIEL;
HALLAKOU-BOZEC, SOPHIE y
BOLZE, SÉBASTIEN

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 577 930 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

Derivados de triazina para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1

5 La presente invención se refiere a derivados de triazina o composición que comprende lo mismo para su uso en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 1, en el que el tratamiento se utiliza para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1 o ralentizar su evolución.

Antecedentes

10 La diabetes mellitus es un trastorno metabólico crónico de etiología múltiple, caracterizada por la hiperglucemia crónica con alteración del metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas como consecuencia de anomalías de la secreción de insulina, la acción de la insulina, o ambas. El efecto de la diabetes mellitus incluye daños, disfunción e insuficiencia de varios órganos a largo plazo. La diabetes mellitus se clasifica generalmente en dos categorías principales:

- Diabetes tipo 1 (anteriormente diabetes mellitus insulino dependiente) abarca la mayor parte de los casos debido fundamentalmente a la destrucción de las células beta de los islotes del páncreas, desarrollada por lo general en la infancia o la adolescencia y es propensa a la cetosis y acidosis. La diabetes tipo 1 representa aproximadamente el 10 % de la diabetes total.

- Diabetes tipo 2 (anteriormente diabetes mellitus no insulino dependiente) incluye la forma principal común de la diabetes que se produce por anomalía(s) de la secreción de insulina, casi siempre con una contribución importante de resistencia a la insulina. La diabetes tipo 2 representa aproximadamente el 90 % de la diabetes total.

25 El inicio de los síntomas de la diabetes tipo 1 es generalmente agudo y con frecuencia después de una infección viral antecedente que podría ser el detonante de un proceso que da lugar a la destrucción de las células beta secundarias en la insulinitis autoinmune. Cuando la destrucción de las células beta alcanza el punto crítico, los niveles de insulina reducidos del paciente dan lugar a hiperglucemia con sintomatología típica de la diabetes tipo 1.

30 La diabetes tipo 1 puede afectar a muchos órganos principales, incluyendo corazón, vasos sanguíneos, nervios, ojos y riñones que conducen a enfermedades cardiovasculares, retinopatía (hasta ceguera), neuropatía y nefropatía (hasta diálisis). El control adecuado de la concentración de glucosa en sangre puede reducir drásticamente el riesgo de muchas complicaciones. El régimen de tratamiento principal para la diabetes tipo 1 consiste en la administración de insulina, generalmente por vía subcutánea. Existen diferentes regímenes de terapia insulínica, y varias combinaciones de insulinas de acción prolongada, acción intermedia y corta pueden utilizarse en función del contexto. La administración continua de insulina mediante una bomba también puede utilizarse para controlar con precisión la concentración de glucosa en sangre. Los regímenes más intensivos tienden a proporcionar un mejor control de la glucosa en sangre, sin embargo, son mucho más intrusivos en la vida del paciente, lo cual pueden ser un problema particular cuando se trata a menores con esta afección.

Sumario de la invención

45 En vista del pronóstico insatisfactorio de pacientes con diabetes tipo 1, sería ventajoso disponer de un tratamiento alternativo que podría utilizarse en lugar de insulina. En particular, resultaría especialmente ventajoso disponer de un tratamiento capaz de retrasar el inicio de la diabetes tipo 1 o ralentizar su evolución, en especial en los primeros estadios, en los que la destrucción de las células beta aún no ha alcanzado el punto crítico. Los inventores han hallado de manera inesperada que los derivados de triazina eran eficientes protegiendo las células beta de la muerte celular, y por consiguiente podrían ser útiles en el tratamiento de la diabetes tipo 1. Esto contribuiría a prevenir la muerte de las células beta una vez realizado el diagnóstico de la diabetes tipo 1, (o a mantener en la medida de lo posible la masa de células beta que todavía no se ha destruido por el proceso autoinmunitario) o a prevenir o retrasar la muerte de las células beta de una población en riesgo antes del estadio de la diabetes tipo 1 (por ejemplo en familiares de sujetos con diabetes tipo 1 con anticuerpos positivos).

55 La solicitud de la patente internacional WO2001/055122 describe derivados de triazina y sus propiedades hipoglucémicas. Para nuestro conocimiento, nunca se han descrito la actividad de dichos derivados de triazina en la protección de las células beta de la destrucción y su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1.

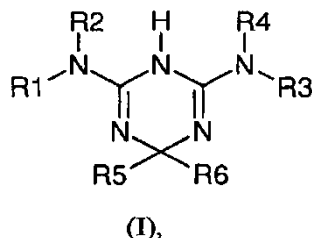
Breve descripción de las figuras

60 Figura 1: Porcentaje del aumento de la apoptosis en comparación con islotes de rata sin tratar (establecido al 100 %). Los valores representan la media $\pm$ eem de cuatro experimentos independientes por duplicado. Los islotes procedentes de seis ratas se agruparon para cada experimento. $\$p < 0,05$ y $\$ \$ \$ P < 0,001$. $### P < 0,001$ cuando se compara específicamente para el control sin citoquinas. $*** P < 0,001$ cuando se compara específicamente para el control con citoquinas.

Descripción detallada de la invención

El primer objetivo de la presente invención es un derivado de triazina según la fórmula (I) para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1, en el que el tratamiento sirve para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1 o ralentizar su evolución.

El derivado de triazina según la invención es un compuesto de fórmula (I):



en la que:

R1, R2, R3 y R4 se seleccionan independientemente entre los siguientes grupos:

- H,
- alquilo (C1-C20),

R5 y R6 se seleccionan independientemente entre los siguientes grupos:

- H,
- alquilo (C1-C20),

una forma racémica, un tautómero, un enantiómero, un diastereoisómero, un epímero o su sal farmacéuticamente aceptable, o una mezcla de los mismos.

En una realización particular, R5 es un átomo de hidrógeno.

En una realización más particular, R6 es un grupo metilo y R5 es un átomo de hidrógeno.

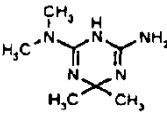
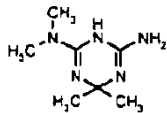
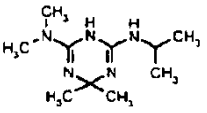
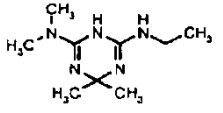
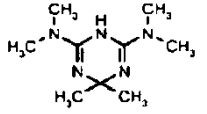
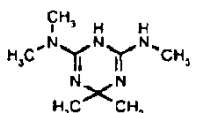
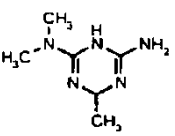
En otra realización particular, R5 y R6 se seleccionan independientemente entre grupos alquilo (C1-C20).

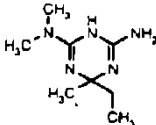
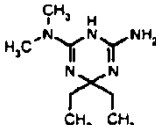
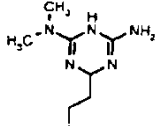
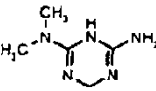
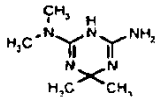
En una realización preferente, R1 y R2 son grupos metilo y R3 y R4 son átomos de hidrógeno.

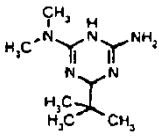
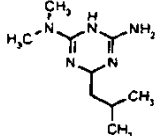
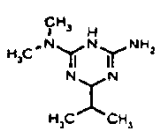
Una familia preferente de compuestos de fórmula (I) incluye compuestos en los que R1, R2 y R6 son, independientemente unos de otros, grupos alquilo (C1-C20) y R3, R4 y R5 son átomos de hidrógeno. En particular, R1, R2 y R6 son grupos metilo.

Los compuestos de fórmula (I) que pueden mencionarse en especial incluyen:

	Fórmula	Sal
1		HCl
2		HCl

3		
5		Metanosulfonato
9		HCl
14		Fumarato
15		HCl
16		HCl
18		HCl

29	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)N(C)C(C)C2</chem>	Carbonato
30	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)N(C)C(C)C2</chem>	Carbonato
32	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)N(C)C(C)C2</chem>	Carbonato
33	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)N(C)C(C)C2</chem>	HCl
35	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)N(C)C(C)C2</chem>	HCl

42		HCl
43		HCl
44		HCl

En la tabla previa, la ausencia de mención de la naturaleza de la sal significa que el compuesto considerado es la amina libre.

5 En una realización preferente, el derivado de triazina de fórmula (I) se selecciona entre 2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina, una forma racémica, un tautómero, un enantiómero, un diastereoisómero y su epímero, y una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

10 En una realización preferente, el derivado de triazina de fórmula (I) se selecciona entre (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina y su sal farmacéuticamente aceptable.

En una realización preferente, el derivado de triazina de fórmula (I) se selecciona entre (-)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina y su sal farmacéuticamente aceptable.

15 En una realización muy preferente, el derivado de triazina de fórmula (I) es clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina.

20 En la presente descripción, el término "alquilo" denota un radical de hidrocarburo lineal o ramificado saturado. Entre los radicales alquilo (C1-C20) pueden citarse radicales metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo, hexilo, octilo, decilo, dodecilo, hexadecilo y octadecilo.

25 Los compuestos para su uso según la presente invención pueden contener centros asimétricos. Estos centros asimétricos pueden estar, independientemente, en configuración R o S. Resultará evidente para un experto en la materia que determinados compuestos que son útiles según la invención también pueden exhibir isomerismo geométrico. Ha de entenderse que la presente invención incluye isómeros y estereoisómeros geométricos individuales y sus mezclas, incluyendo mezclas racémicas, de compuestos de fórmula (I). Los isómeros de este tipo pueden separarse de sus mezclas por aplicación o adaptación de procesos conocidos, por ejemplo técnicas de cromatografía o recristalización, o pueden prepararse por separado a partir de isómeros aptos de sus intermedios.

30 Los compuestos de fórmula (I) incluyen asimismo los profármacos de estos compuestos. El término "profármaco" se entiende como compuestos que, cuando se administran al paciente, se convierten química y/o biológicamente en el cuerpo vivo en compuestos de fórmula (I). Los enantiómeros de los compuestos según la invención y el proceso para su preparación se describen particularmente en la solicitud de la patente WO 2004/089917.

35 La presente solicitud de patente se refiere igualmente a las formas polimórficas de los compuestos, obtenidas según la solicitud de patente WO 2004/089917, por ejemplo la forma polimórfica A1 o H1 de sales de clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina.

40 Se ha demostrado que los derivados de triazina son eficaces protegiendo las células beta de la muerte celular.

El derivado de triazina de fórmula (I) definido previamente puede utilizarse en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes tipo 1.

El derivado de triazina de fórmula (I) puede incluir una composición farmacéutica que comprende un soporte

farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica que comprende el derivado de triazina de fórmula (I) según la invención puede prepararse mezclando el derivado de triazina con un soporte, un excipiente, un aglutinante o un diluyente fisiológicamente aceptable. Preferentemente, la composición no comprende insulina.

- 5 Otro objetivo de la presente invención es por consiguiente una composición farmacéutica que comprende un derivado de triazina de fórmula (I) para su uso en un método para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1 o ralentizar su evolución, en el que la composición no comprende insulina.

10 Los derivados de triazina de la invención pueden utilizarse en seres humanos con diabetes tipo 1 existente, que incluye los estadios tempranos o tardíos de la enfermedad, preferentemente en un estadio temprano de la enfermedad. Los derivados de triazina de la invención se utilizan en seres humanos para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1 o ralentizar su evolución. Los derivados de la invención no curarán necesariamente al paciente que padece la enfermedad pero retrasarán o ralentizarán la evolución o prevendrán aún más la evolución de la enfermedad, mejorando de este modo la afección del paciente. Los derivados de la invención también pueden
15 administrarse a aquellos que no presentan todos los síntomas de la diabetes tipo 1 pero que normalmente pueden desarrollar la diabetes tipo 1 o presentar mayor riesgo de diabetes tipo 1. El tratamiento también incluye retrasar el desarrollo de la enfermedad en un individuo que en última instancia desarrollará todos los síntomas de la diabetes tipo 1 o con riesgo de padecer la enfermedad debido a la edad, los antecedentes familiares, las anomalías genéticas o cromosómicas, y/o debido a la presencia de uno o más marcadores biológicos de la enfermedad. Al retrasar el
20 inicio de la enfermedad, los derivados de la invención evitan al individuo de contraer la enfermedad durante el periodo en el que el individuo normalmente habría contraído la enfermedad o reducido la tasa de desarrollo de la enfermedad o algunos de sus efectos. El tratamiento también incluye la administración de los derivados de la invención a aquellos individuos que se cree que tienen predisposición a la diabetes tipo 1. En el tratamiento de la diabetes tipo 1, los derivados de la invención se administran en una cantidad terapéuticamente eficaz.

25 En la presente invención, una "cantidad eficaz" es una cantidad suficiente para mejorar de alguna manera el estado de salud del paciente.

30 El medicamento para tratar la diabetes tipo 1 que comprende un derivado de triazina según la invención se administra a un sujeto en necesidad del mismo.

Los sujetos en necesidad de dicho tratamiento pueden clasificarse en tres categorías.

35 Primero, algunos pacientes (grupo I) se encuentran en situación "de riesgo" de desarrollar diabetes tipo 1; presentan anticuerpos característicos del desencadenamiento de la enfermedad. Las células beta de estos pacientes no están dañadas seriamente.

Segundo, la enfermedad de algunos pacientes (grupo II) se ha detectado en un estadio temprano de la enfermedad. Las células beta de estos pacientes solo están parcialmente destruidas.

40 Tercero, algunos pacientes (grupo III) presentan una forma tardía (forma desarrollada) de la diabetes tipo 1. Las células beta de estos pacientes están muy dañadas.

45 Resultan preferentes los pacientes de los grupos I y II que se tratarán según la invención. Uno de los objetivos del tratamiento de la invención de estos grupos de pacientes es retrasar la evolución de la diabetes tipo 1.

En una realización específica, los sujetos en necesidad del tratamiento de la invención son niños o sujetos jóvenes (en particular menores de 30 años) que padecen diabetes tipo 1. En otra realización específica, los sujetos en necesidad del tratamiento de la invención son adultos que padecen DALA (diabetes autoinmune latente del adulto).
50 DALA es una forma de diabetes tipo 1 que se diagnostica en individuos mayores que la edad habitual del inicio de la diabetes tipo 1 (es decir, mayores de 30 años en el momento del diagnóstico). El término alternativo que se ha utilizado para "DALA" incluye diabetes autoinmune del adulto de inicio tardío, diabetes "tipo 1 de inicio lento", y a veces también diabetes "tipo 1.5". A menudo suele entenderse erróneamente que los pacientes con DALA padecen diabetes tipo 2, en base a su edad en el momento del diagnóstico. DALA se describe en P. Pozzilli *et al.* Diabetes care 2001, 24, 8, págs. 1460-1467.

La cantidad de derivado de triazina de fórmula (I) a administrar puede desarrollarse en un gran alcance en función del paciente, el modo de administración y el efecto esperado. En particular, la cantidad de derivado de triazina a administrar se comprende entre 200 mg y 4.000 mg, preferentemente entre 500 y 3.000 mg, en particular entre
60 1.000 y 2.000 mg, por día.

Preferentemente, no se administra insulina al paciente en un intervalo de menos de 24 horas precedentes o siguientes a la administración del derivado de triazina de fórmula (I) como se ha descrito previamente.

65 En una realización, el derivado de triazina es el único principio activo en la composición para su uso según la invención.

El derivado o composición para su uso según la invención puede administrarse por vía oral o no oral, por ejemplo mediante vía parenteral, intravenosa, cutánea, nasal o rectal.

La composición farmacéutica de la invención puede presentar diferentes formas incluyendo gránulos, polvos, comprimidos, cápsulas de gel, jarabes, emulsiones, suspensiones y formas empleadas para la administración no oral, por ejemplo inyecciones, pulverizadores o supositorios. Estas formas farmacéuticas pueden prepararse por medio de técnicas convencionales conocidas.

La preparación de una forma farmacéutica sólida administrada por vía oral puede realizarse por ejemplo por el siguiente proceso: un excipiente (por ejemplo lactosa, sacarosa, almidón o manitol), un desintegrante (por ejemplo carbonato cálcico, carboximetilcelulosa cálcica, ácido algínico, carboximetilcelulosa sódica, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa sódica, Crospovidona, goma guar, silicato de aluminio y magnesio, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, almidón pregelatinizado, alginato de sodio o glicolato de almidón), un aglutinante (por ejemplo almidón alfa, goma arábica, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa, ácido algínico, carbómero, dextrina, etilcelulosa, alginato de sodio, maltodextrina, glucosa líquida, silicato de aluminio y magnesio, hidroxietilcelulosa, metilcelulosa o goma guar) y un lubricante (por ejemplo talco, estearato de magnesio o polietileno 6000) se añaden al principio activo y la mezcla obtenida se comprime a continuación. En caso necesario, el comprimido puede revestirse por medio de las técnicas conocidas, con el fin de enmascarar el sabor (por ejemplo con polvo de cacao, polvo de menta, borneol o canela) o para permitir la disolución entérica o la liberación sostenida de los principios activos. Los productos de revestimiento que pueden utilizarse son, por ejemplo, etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, polioxietilenglicol, acetatoftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y Eudragit® (copolímero de ácido metacrílico-ácido acrílico), Opadry® (hidroxipropilmetilcelulosa + macrogol + óxido de titanio + monohidrato de lactosa). Se pueden añadir colorantes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo óxido de hierro amarillo, óxido de hierro rojo o lago amarillo de quinolina).

Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Las soluciones acuosas pueden obtenerse disolviendo el principio activo en agua, seguido de la adición de saborizantes, colorantes, estabilizadores y/o espesantes, en caso necesario. Con el fin de mejorar la solubilidad, es posible añadir etanol, propilenglicol o cualquier otro disolvente no acuoso farmacéuticamente aceptable. Las suspensiones acuosas para su uso oral pueden obtenerse dispersando el principio activo finamente dividido en agua con un producto viscoso, tal como una goma o resina natural o sintética, metilcelulosa o carboximetilcelulosa sódica.

Las formas farmacéuticas para inyección pueden obtenerse, por ejemplo, mediante el siguiente proceso. El principio activo se disuelve, se suspende o se emulsiona en un medio acuoso (por ejemplo agua destilada, solución salina fisiológica o solución de Ringer) o en un medio oleoso (por ejemplo aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de algodón, aceite de maíz o propilenglicol), con un dispersante (por ejemplo Tween 80, HCO 60 (Nikko Chemicals), polietilenglicol, carboximetilcelulosa o alginato de sodio), un agente conservante (por ejemplo, metil p-hidroxibenzoato, propil p-hidroxibenzoato, alcohol bencílico, clorobutanol o fenol), un agente de isotonicidad (por ejemplo cloruro sódico, glicerol, sorbitol o glucosa) y, opcionalmente, otros aditivos, tales como, si se desea, un agente solubilizante (por ejemplo salicilato sódico o acetato sódico) o un estabilizador (por ejemplo seroalbúmina humana).

Las formas farmacéuticas para su uso externo pueden obtenerse a partir de una composición sólida, semisólida o líquida que contiene el principio activo. Por ejemplo, para obtener una forma sólida, el principio activo puede tratarse con excipientes (por ejemplo lactosa, manitol, almidón, celulosa microcristalina o sacarosa) y un espesante (por ejemplo gomas naturales, derivados de celulosa o polímeros acrílicos) para convertirlas en polvo. Las composiciones farmacéuticas líquidas se preparan básicamente de la misma manera que las formas para inyección, como se ha indicado previamente. Las formas farmacéuticas semisólidas se encuentran preferentemente en forma de geles acuosos u oleosos o en forma de pomadas. Estas composiciones pueden contener opcionalmente un regulador del pH (por ejemplo ácido carbónico, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido clorhídrico o hidróxido sódico) y un agente conservante (por ejemplo, un éster del ácido p-hidroxibenzoico, clorobutanol o cloruro de benzalconio).

El derivado de triazina según la invención puede coadministrarse con al menos otro compuesto activo. Preferentemente, al menos otro compuesto activo es diferente de la insulina. Preferentemente, al menos otro compuesto activo se selecciona entre los tratamientos utilizados en la actualidad para tratar la agresión autoinmune. El término "coadministración" (o "coadministrado") significa la administración simultánea, separada o secuencial de uno o más compuestos al mismo paciente, en un periodo que puede ser hasta 2 horas o incluso hasta 12 horas. Por ejemplo, el término coadministración incluye (1) una administración simultánea de los dos compuestos, (2) una administración del primer compuesto, seguido 2 horas más tarde por la administración del segundo compuesto, (3) una administración del primer compuesto, seguido 12 horas más tarde por la administración del segundo compuesto. En el caso de la insulina se coadministra con el derivado de triazina de la invención, la insulina se administra preferentemente al paciente en un intervalo de más de 24 horas (preferentemente más de 25 horas) siguientes a la administración del derivado de triazina de fórmula (I) como se ha descrito previamente. Los ejemplos siguientes se proporcionan como ilustraciones no limitantes de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1: Estudio del efecto protector de un derivado de triazina en la muerte de las células beta

- 5 Se cultivaron islotes pancreáticos de rata durante 24 horas con o sin un cóctel de citoquinas (FNT-alfa, IL-1beta e INF-gamma cada uno a 2 ng/ml), creando estrés inflamatorio, con el fin de cuantificar las propiedades protectoras de clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina. Ambas dosis de clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina protegieron por completo los islotes del estrés de citoquinas.
- 10 Estos resultados permiten concluir que el clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina presenta propiedades protectoras contra la apoptosis de tipo basal e inflamatoria en islotes de rata cultivados.

Procedimiento experimental:

- 15 Los islotes de rata Wistar macho (Elevage Janvier, Le Genest-Saint-Isle, Francia) se aislaron utilizando collagenasa (Serva, Heidelberg, Alemania) y se cultivaron en medio RPMI en 11 mM de glucosa (Invitrogen, CA, EE. UU.) suplementado con SFB al 10 % (suero fetal bovino), 100 unidades/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina y 100 µg/ml de gentamicina en placas de 24 pocillos de baja unión (Corning, NY, EE. UU.). Estos islotes se incubaron con un cóctel de citoquinas de rata (FNT-alfa, IL-1beta e INF-gamma cada uno a 2 ng/ml) durante 24 horas (Brun T. *et al.*, 2004 y 2007). 1 hora antes de la incubación de citoquinas, se añadieron por separado clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina (Imeglimina) en 100 µM o 1 mM, Ciclosporina A (CsA) en 0,83 µM o Exendina-4 (Exe-4) en 10 nM (Sigma, MO, EE. UU.) al medio para medir el efecto protector de cada fármaco en islotes estresados o sin estresar. Las alícuotas del medio se utilizaron para medir la insulina acumulada durante el periodo de cultivo empleando kits de ensayo inmunoenzimático (Brunchwig, Basilea, Suiza). Además, la
- 20 cuantificación de los nucleosomas citoplasmáticos, un indicador directo de la apoptosis, se llevó a cabo con el kit ELISA de detección de muerte celular (Roche, Basilea, Suiza). Cada condición se ensayó con 50 islotes de rata por duplicado y se realizaron cuatro experimentos independientes. Los resultados se presentan como media +/- eem y los análisis estadísticos se realizaron utilizando ANOVA de una vía con ensayos post-hoc de Bonferroni y Dunnett. Las diferentes condiciones se resumen en la siguiente tabla.

Condición #	1	2	3	4	5
Tratamiento de islotes	- citoquinas sin tratar	- citoquinas 100 µM Imeglimina	- citoquinas 100 mM Imeglimina	- citoquinas 0,83 µM CsA	- citoquinas 10 nM Exe-4
n.º de islotes por duplicado	50	50	50	50	50

Condición #	6	7	8	9	10
Tratamiento de islotes	+ citoquinas sin tratar	+ citoquinas 100 µM Imeglimina	- citoquinas 100 µM Imeglimina	+ citoquinas 0,83 µM CsA	+ citoquinas 10 nM Exe-4
n.º de islotes por duplicado	50	50	50	50	50

Resultados:

- 35 Para cuantificar el efecto protector del clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina en los islotes pancreáticos de rata, se añadieron dos dosis del compuesto (100 µM y 1 mM) al medio 1 hora antes de una incubación de 24 horas con o sin un cóctel de citoquinas de rata (FNT-alfa, IL-1beta e INF-gamma). Las condiciones sin citoquinas permitieron el análisis del efecto específico del compuesto en los islotes mientras que la combinación del fármaco con citoquinas permitió el estudio del efecto de Imeglimina en islotes en estrés inflamatorio.
- 40 Para medir la muerte celular en los islotes, se realizó la cuantificación de los nucleosomas citoplasmáticos en las células de los islotes, una consecuencia de la fragmentación del ADN durante la apoptosis (Robertson *et al.*, 2000). Para poder comparar los resultados con una doble referencia, se analizó el nivel de muerte celular en los islotes sin tratar, pero también en los islotes incubados solo con citoquinas. Además, un control negativo y un control positivo se añadieron a las condiciones con y sin citoquinas para ensayar la eficacia del protocolo. La ciclosporina A, resultó ser tóxica en los islotes pancreáticos (Hahn *et al.*, 1986) aunque protectora en otros tipos celulares (Tharakan B. *et al.*, 2009; Fauvel H. *et al.*, 2002; Sullivan P. G. *et al.*, 2000), se seleccionó como el control negativo mientras que la exendina-4, con potentes propiedades protectoras contra la muerte celular (Li *et al.*, 2003; Wang y Brubaker, 2002), se utilizó como control positivo interno. Los resultados de la cuantificación de la muerte celular para cada condición se presentan en la Figura 1.

- 50 Para las condiciones sin adición de citoquinas, el clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina en 100 µM presentó efectos protectores (10 % menos de apoptosis que los islotes sin tratar). La ciclosporina A por sí sola indujo un aumento del 17 % en la apoptosis. La exendina-4 mostró el efecto opuesto con una

disminución del 16 % de muerte celular. Estos resultados indican que el clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina es por sí mismo protector con un nivel de protección que representa dos tercios del nivel de exendina- 4.

- 5 El tratamiento de citoquinas provocó un aumento del 12 % de muerte celular en comparación con los islotes sin tratar. En presencia de citoquinas, el clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina en 100 µM presentó incluso un mayor efecto protector (37 % menos de apoptosis que los islotes estresados con citoquinas o 29 % menos de apoptosis que los islotes sin tratar) mientras que el clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina en 1 mM protegió un 25 % o 16 %, respectivamente. La ciclosporina A indujo un aumento del 8 % o 22 % respectivamente, y la exendina-4 una disminución del 29 % o 20 % en la apoptosis. Estos valores muestran un efecto protector del clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina. La concentración inferior ensayada es casi un 50 % más potente que exendina-4.

Ejemplo 2: Composiciones según la invención

15 Formulación 1:

clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina: 1.000 mg
celulosa microcristalina: 114 mg
20 croscarmelosa: 30 mg
polivinilpirrolidona: 40 mg
estearato de magnesio: 15 mg
Opadry®: 25 mg

25 Formulación 2:

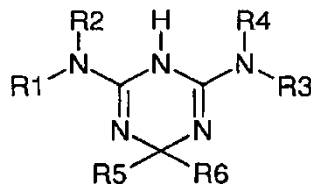
clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina: 750 mg
celulosa microcristalina: 110 mg
croscarmelosa: 21 mg
30 polivinilpirrolidona: 30 mg
estearato de magnesio: 10,5 mg
Opadry®: 20 mg

Formulación 3:

35 clorhidrato de (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina: 1.000 mg
celulosa microcristalina: 150 mg
croscarmelosa: 25 mg
polivinilpirrolidona: 45 mg
40 estearato de magnesio: 10 mg
Eudragit®: 25 mg.

REIVINDICACIONES

1. Derivado de triazina de fórmula (I)



(I),

en la que:

R1, R2, R3 y R4 se seleccionan independientemente entre los siguientes grupos:

H,
alquilo (C1-C20),

R5 y R6 se seleccionan independientemente entre los siguientes grupos:

H,
alquilo (C1-C20),

una forma racémica, un tautómero, un enantiómero, un diastereoisómero, un epímero o su sal farmacéuticamente aceptable,

o una mezcla de los mismos;

para su uso en un método para el tratamiento de la diabetes tipo 1, en el que el tratamiento sirve para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1 o ralentizar su evolución.

2. Derivado de triazina según la reivindicación 1 para su uso según la reivindicación 1, en el que al menos uno de R5 y R6 es un átomo de hidrógeno.

3. Derivado de triazina según la reivindicación 2 para su uso según la reivindicación 1, en el que R6 es un grupo metilo y R5 es un átomo de hidrógeno.

4. Derivado de triazina según cualquiera de las reivindicaciones previas para su uso según la reivindicación 1, en el que R1 y R2 son grupos metilo y R3 y R4 son átomos de hidrógeno.

5. Derivado de triazina según cualquiera de las reivindicaciones previas para su uso según la reivindicación 1, en el que el derivado de triazina se selecciona entre 2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina, una forma racémica, un tautómero, un enantiómero, un diastereoisómero y su epímero, y una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

6. Derivado de triazina según la reivindicación 5 para su uso según la reivindicación 1, en el que el derivado de triazina se selecciona entre (+)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina y su sal farmacéuticamente aceptable.

7. Derivado de triazina según la reivindicación 5 para su uso según la reivindicación 1, en el que el derivado de triazina se selecciona entre (-)-2-amino-3,6-dihidro-4-dimetilamino-6-metil-1,3,5-triazina y su sal farmacéuticamente aceptable.

8. Derivado de triazina según la reivindicación 6 o 7 para su uso según la reivindicación 1, en el que la sal farmacéuticamente aceptable es clorhidrato.

9. Derivado de triazina según cualquiera de las reivindicaciones previas para su uso según la reivindicación 1, en el que el paciente a tratar se encuentra en situación de riesgo de desarrollar diabetes tipo 1.

10. Derivado de triazina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso según la reivindicación 1, en el que el paciente a tratar se encuentra en un estadio temprano de diabetes tipo 1.

11. Derivado de triazina según cualquiera de las reivindicaciones previas para su uso según la reivindicación 1, en el que el paciente a tratar es un adulto que padece diabetes autoinmune latente del adulto.

12. Derivado de triazina según cualquiera de las reivindicaciones previas para su uso según la reivindicación 1, en el que el paciente a tratar no se le administra insulina en un intervalo de menos de 24 horas precedentes o siguientes a la administración del derivado de triazina.
- 5 13. Composición que comprende un derivado de triazina de fórmula (I) reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en un método para retrasar el inicio de la diabetes tipo 1 o ralentizar su evolución, en la que la composición no comprende insulina.
- 10 14. Composición según la reivindicación 13 para su uso según la reivindicación 13, en la que el derivado de triazina es el único compuesto activo.
15. Derivado de triazina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso según la reivindicación 1, en el que se administra en una cantidad comprendida entre 1.000 y 2.000 mg por día.

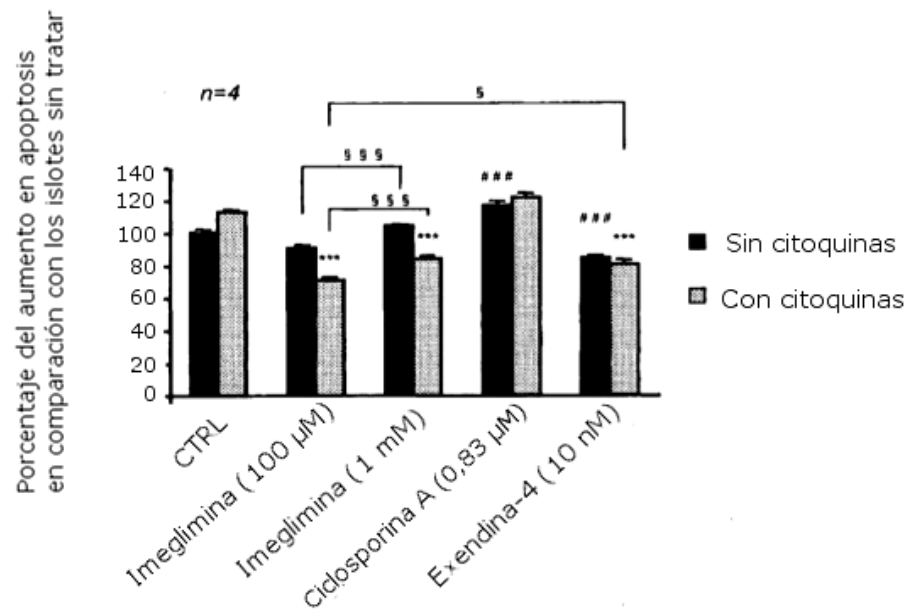


FIGURA 1