

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 532**

51 Int. Cl.:

A61K 31/505 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.03.2012 PCT/US2012/028429**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2012 WO12122452**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.03.2012 E 12711500 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 2683385**

54 Título: **2,4 pirimidinadiaminas sustituidas para su uso en lupus discoide**

30 Prioridad:

10.03.2011 US 201161451531 P

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

18.10.2018

73 Titular/es:

**RIGEL PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
1180 Veterans Boulevard
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**MAGILAVY, DANIEL y
PINE, POLLY**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 686 532 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

2,4 pirimidinadiaminas sustituidas para su uso en lupus discoide

Campo

5 La presente solicitud se refiere a compuestos, sus sales y composiciones farmacéuticas que los contienen y a métodos para el uso de estos compuestos y sus composiciones en el tratamiento de los trastornos dermatológicos, como enfermedad vascular cutánea del colágeno, por ejemplo, trastorno de lupus cutáneo, como lupus eritematoso discoide.

Antecedentes

10 Las quinasas JAK (Janus quinasas) son una familia de las proteínas tirosina quinasas citoplasmáticas, que incluyen JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. Cada una de las quinasas JAK selecciona los receptores de ciertas citocinas, aunque múltiples quinasas JAK pueden afectarse por citocinas particulares o vías de señalización. Los estudios sugieren que JAK3 se asocia con la cadena gama común (γc) de los varios receptores de citocina. JAK3, en particular, se une de forma selectiva a los receptores y es parte de la vía de señalización de citocina para IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21. JAK1 interactúa, entre otros, con los receptores de las citocinas IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-21, mientras que

15 JAK2 interactúa, entre otros, con los receptores de IL-9 y TNF- α . Tras la unión de ciertas citocinas con sus receptores (por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21), ocurre la oligomerización, lo que resulta en colas citoplasmáticas de las quinasas JAK asociadas que se colocan de forma próxima y facilitan la transfosforilación de los residuos de tirosina en la quinasa JAK. Esta transfosforilación resulta en la activación de la quinasa JAK.

20 Las quinasas JAK fosforiladas se unen a varias proteínas STAT (transductoras de señal y activadoras de transcripción). Las proteínas STAT, que son proteínas de unión al ADN que se activan mediante la fosforilación de los residuos de tirosina, funcionan como moléculas de señalización y factores de transcripción y en última instancia se unen a secuencias de ADN específicas presentes en los promotores de genes que responden a la citocina. La señalización de JAK/STAT ha estado implicada en la mediación de muchas respuestas inmunes anormales como alergias, asma, enfermedades autoinmunes como el rechazo de trasplante (aloinjerto), artritis reumatoidea,

25 esclerosis lateral amiotrófica y esclerosis múltiple, trastornos y enfermedades oculares, así como en malignidades hematológicas como la leucemia y linfomas.

Los trastornos del tejido conjuntivo son un grupo de enfermedades que afectan una amplia variedad de órganos y a veces se denominan enfermedades vasculares del colágeno. Esta clase de enfermedades incluye muchos trastornos inflamatorios, como la vasculitis, lupus eritematoso discoide (DLE), lupus eritematoso sistémico (SLE),

30 esclerosis sistémica progresiva, polimiositis/dermatomiositis, polimialgia reumática, poliarteritis nodosa y granulomatosis de Wegner. Estas son diferentes enfermedades que fueron distinguidas clínicamente entre sí a los efectos del diagnóstico, pronóstico y tratamiento.

El lupus eritematoso es una categoría genérica de enfermedad que incluye trastornos sistémicos y cutáneos. La forma sistémica de la enfermedad puede presentar manifestaciones cutáneas y sistémicas. No obstante, también

35 existen formas de la enfermedad que son únicamente cutáneas sin implicancia sistémica. Por ejemplo, el SLE (lupus eritematoso sistémico) es un trastorno inflamatorio de etiología desconocida que ocurre predominantemente en las mujeres y se caracteriza por síntomas articulares, eritema en forma de mariposa, pleuritis recurrente, pericarditis, adenopatía generalizada, esplenomegalia así como implicancia en el Sistema Nervioso Central e insuficiencia renal progresiva. Los sueros de la mayoría de los pacientes (más del 98%) contienen anticuerpos antinucleares que

40 incluyen anticuerpos anti-ADN. Los altos valores de anticuerpos anti-ADN son básicamente específicos para el SLE. El tratamiento convencional para esta enfermedad ha sido la administración de corticosteroides o inmunosupresores.

Existen tres formas de lupus cutáneo: lupus cutáneo crónico (también conocido como lupus eritematoso discoide o DLE), lupus cutáneo subagudo y lupus cutáneo agudo. El DLE es un trastorno crónico desfigurativo que afecta principalmente a la piel con manchas fuertemente marcadas y placas que muestran eritema, obstrucción folicular,

45 escamas, telangiectasia y atrofia. La afección a menudo se precipita por la exposición al sol y las lesiones prematuras son pápulas escamosas redondas eritematosas, que tienen de 5 a 10 mm de diámetro y muestran obstrucción folicular. Las lesiones de DLE aparecen más comúnmente en las mejillas, nariz, cuero cabelludo y orejas, pero también pueden generalizarse en la porción superior del tronco, en las superficies de extensión de las extremidades y en las membranas mucosas de la boca. Si no se trata, la lesión central se atrofia y deja una cicatriz.

50 A diferencia del SLE, los anticuerpos contra el ADN de cadena doble (por ejemplo, prueba de unión a ADN) se encuentran casi invariablemente ausentes en el DLE.

Los tratamientos de DLE incluyen ungüentos o cremas de corticosteroides tópicos, como acetona de triamcinolona, fluocinolona, flurandrenolida, valerato de betametasona o dipropionato de betametasona. Las placas resistentes pueden inyectarse con un corticosteroide intradérmico. No obstante, el uso prolongado de corticosteroides en sí

55 puede conducir a varios efectos secundarios, como atrofia de piel, estrías, formación fácil de hematomas y rasgado de la piel, dermatitis, telangiectasia y susceptibilidad superior a infecciones. Otros tratamientos posibles para el DLE incluyen inhibidores de calcineurina como crema de pimecrolimus o ungüento de tacrolimus. Los casos particularmente resistentes pueden tratarse con fármacos antimaláricos sistémicos como hidroxicloroquina

(PLAQUENIL). No obstante, este fármaco presenta el riesgo de toxicidad retinal significativa con retinopatía de ojo de buey. Incluso después de dejar de tomar el fármaco, la pérdida visual puede continuar y no se ha encontrado ninguna terapia médica para revertir el daño retinal.

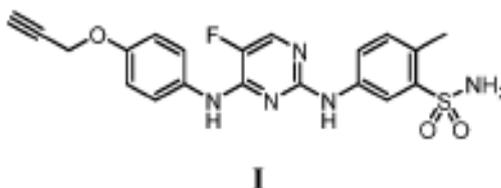
- 5 El DLE es una enfermedad desfigurativa para la cual las terapias actuales han probado ser insatisfactorias. También se necesitan tratamientos para otras formas cutáneas de lupus, como las formas agudas y subagudas.

SUMARIO

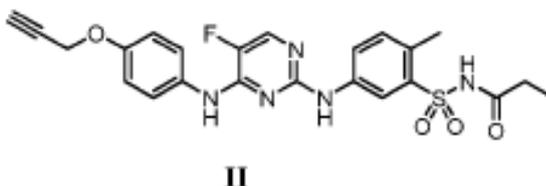
10 Actualmente se aprecia que los compuestos que modulan las vías de JAK y los métodos para el uso de estos compuestos pueden utilizarse para proporcionar un beneficio terapéutico a los individuos que presentan formas cutáneas de lupus eritematoso, como el lupus eritematoso discoide (DLE). Los compuestos pueden administrarse sistémicamente o tópicamente, pero en los ejemplos particulares los compuestos se aplican directamente a las lesiones cutáneas diana, por ejemplo, en una formulación tópica. En ciertas realizaciones, el individuo presenta lupus eritematoso cutáneo, como DLE, lupus cutáneo subagudo, o lupus cutáneo agudo. En otros ejemplos, el individuo presenta únicamente lupus eritematoso cutáneo, como DLE, lupus cutáneo subagudo o lupus cutáneo agudo, sin manifestaciones sistémicas de lupus. En otras realizaciones, el fármaco se utiliza para tratar manifestaciones cutáneas del lupus eritematoso inducido por fármacos (DILE).

15 Se divulgan compuestos, formas de sales correspondientes y métodos para el uso de estos compuestos y formas de sales en el tratamiento del lupus eritematoso discoide.

Una realización proporciona un compuesto I y sus sales farmacéuticamente aceptables:



- 20 Otra realización proporciona un profármaco particular del compuesto I y sus formas de sales farmacéuticamente aceptables, que es el compuesto II:



- 25 En un aspecto, el lupus eritematoso cutáneo, como DLE, se trata mediante el uso de una cantidad eficaz del compuesto I y/o II, así como sus formas de sales y composiciones farmacéuticas que incluyen el compuesto o compuestos. Una realización proporciona un método para tratar el DLE mediante la administración al individuo de una cantidad del compuesto I y/o II eficaz para tratar la afección. En los ejemplos particulares, la composición farmacéutica se administra en una formulación tópica directamente a una o más lesiones cutáneas, como lesiones en la piel o en la membrana mucosa (como la mucosa oral). En ejemplos particulares, la formulación tópica se aplica directamente a la lesión cutánea sin aplicarla a ninguna cantidad sustancial de piel no afectada.

- 30 En un aspecto del método divulgado, la administración de uno o más de los compuestos de 2,4-pirimidinadamina divulgados en la presente es eficaz para provocar al menos la regresión parcial de las lesiones que caracterizan la enfermedad. En algunos ejemplos, primero se determina que el individuo presenta lupus eritematoso cutáneo crónico como DLE y no SLE. Por ejemplo, el individuo presenta las características clínicas e histopatológicas de DLE y no tiene anticuerpos anti ADN de cadena doble. En otras realizaciones, el individuo puede presentar DLE y SLE.

- 35 En otro aspecto, el compuesto de fórmula I y/o II o su sal farmacéuticamente aceptable se administra solo o en combinación o junto con un antiinflamatorio, una antihistamina, un antibiótico, un agente antiviral, un emoliente o un analgésico, por ejemplo, un analgésico tópico como un anestésico o capsacinoide. En ejemplos particulares, el agente antiinflamatorio puede ser un agente antiinflamatorio no esteroideo (NSAID) o un corticosteroide (como prednisolona), un inmunosupresor (como ciclosporina A), un antiirritante (como canfor) o un antiprurítico (como crotamitón), administrado sistémicamente (por ejemplo, oralmente o parenteralmente) o tópicamente (por ejemplo, en una crema o ungüento o sobre un aplicador tópico adherente como un parche o una cinta). De forma alternativa, el compuesto de fórmula I y/o II se administra solo o en combinación con otro agente biológicamente activo en un agente de filtro solar tópico (para minimizar la exposición a la luz ultravioleta que a menudo empeora el DLE). Otros

tratamientos de combinación pueden incluir el uso de tratamiento concomitante o accesorio de un trastorno dermatológico asociado, por ejemplo, tratamientos con láser o luz para reducir el eritema facial.

5 Típicamente, cuando los compuestos de fórmula I y/o II divulgados se utilizan para el tratamiento del lupus cutáneo como DLE tópicamente, se administran al menos una vez al día, como al menos dos, tres o cuatro veces al día o se aplican a la piel en una forma de liberación sostenida (como un dispensador adherente, por ejemplo, un parche).

Estas y otras realizaciones se describen en más detalle a continuación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 es una fotografía que ilustra algunas lesiones desfigurativas de DLE como aparecen en las extremidades.

10 La figura 2 es una fotografía que ilustra la cicatrización discoide y la hipopigmentación en el área occipital de la cabeza de un individuo.

La figura 3 es una fotografía que ilustra los efectos de la atrofia cutánea inducida por el uso de un glucocorticoide tópico.

15 La figura 4 es una tabla que ilustra la actividad y daño de las lesiones cutáneas de DLE y demuestra como clasificar la seriedad de DLE. Dichas clasificaciones son útiles para el seguimiento de la actividad de la enfermedad y clasificar la respuesta a los tratamientos.

ABREVIATURAS

ACLE: Lupus eritematoso cutáneo agudo.

CCLE: Lupus eritematoso cutáneo crónico.

COX: Ciclooxygenasa.

20 DES: Síndrome del ojo seco.

DILE: Lupus eritematoso inducido por fármacos.

DLE: Lupus eritematoso discoide.

LE: Lupus eritematoso.

SCLE: Lupus eritematoso cutáneo subagudo.

25 SLE: Lupus eritematoso sistémico.

STAT: Transductor de señal y activador de transcripción.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Definiciones

Como se utiliza en la presente, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario.

30 “Corticosteroides” son hormonas esteroides que se producen en la corteza adrenal. Los corticosteroides se encuentran implicados en una amplia variedad de sistemas fisiológicos como respuesta al estrés, respuesta inmune y regulación de la inflamación, metabolismo de carbohidratos, catabolismo de proteínas, niveles de electrolitos en sangre y comportamiento. Los ejemplos de corticosteroides incluyen cortisol, prednisona y prednisilona. Los corticosteroides pueden administrarse oralmente, parenteralmente (por ejemplo, mediante inyección) o mediante aplicación tópica a una lesión en la piel y pueden combinarse con los compuestos de fórmula I y/o II en una formulación de combinación. Los “corticosteroides tópicos” se aplican tópicamente de forma directa en la piel, pero el uso a largo plazo de los corticosteroides tópicos causa atrofia cutánea antiestética.

40 “Cutáneo” o “dérmico” se refiere a la piel, que es el tejido que forma el recubrimiento externo del cuerpo de los vertebrados. La piel (que a veces se denomina “sistema intergumentario”) en combinación con las membranas mucosas (particularmente las membranas orales, nasales, de los párpados) ayudan a proteger el cuerpo de su ambiente externo. La piel consiste en dos capas (la dermis y la epidermis), la más externa de las cuales puede estar cubierta en muchos animales (incluidos los humanos) al menos en parte, con cabello. Su función es principalmente protectora y sensorial, junto con las membranas mucosas del ojo, la nariz y la boca.

45 “Lupus cutáneo” o “lupus eritematoso cutáneo” se refiere a manifestaciones cutáneas de lupus eritematoso de conformidad con la clasificación de Gilliam de la enfermedad cutánea de lupus eritematoso. Rothfield et al., *Clinics in Dermatology* 24:348-362 (2006). Este sistema divide la enfermedad cutánea de lupus en enfermedades cutáneas de lupus eritematoso específico y lupus eritematoso no específico que muestran cambios histológicos distintivos.

50 El “lupus eritematoso discoide” o “DLE” (también conocido como lupus eritematoso cutáneo crónico o CCLE) es un trastorno crónico habitualmente desfigurativo que afecta principalmente la piel con manchas fuertemente marcadas y placas que muestran eritema, obstrucción folicular, escamas, telangiectasia y atrofia. La afección a menudo se precipita por la exposición al sol y las lesiones prematuras son pápulas escamosas redondas eritematosas, que tienen de 5 a 10 mm de diámetro y muestran obstrucción folicular. Las lesiones de DLE aparecen más comúnmente

en las mejillas, nariz, cuero cabelludo y orejas, pero también pueden generalizarse en la porción superior del tronco, en las superficies de extensión de las extremidades y en las membranas mucosas de la boca. A diferencia del SLE, los anticuerpos contra el ADN de cadena doble (por ejemplo, prueba de unión a ADN) se encuentran casi invariablemente ausentes en el DLE. Los compuestos de fórmula I y II se utilizan para tratar individuos que presentan DLE negativo de ADN de cadena doble (ds-DNA).

El "lupus eritematoso cutáneo crónico" (CCLE) generalmente se subdivide en lupus eritematoso discoide clásico (DLE), lupus eritematoso discoide en niños, lupus eritematoso discoide generalizado, lupus eritematoso discoide localizado, lupus eritematoso profundo, lupus eritematoso panniculitis (lupus eritematoso profundo), lupus eritematoso mucosal, lupus eritematoso tímido, lupus eritematoso de sabañones, síndrome de superposición de liquen plano - lupus eritematoso, lupus eritematoso verrugoso (lupus eritematoso hipertrófico) y otras variantes raras. El DLE clásico es la forma más común de CCLE y la mayoría de los pacientes que presentan lesiones de DLE clásico nunca desarrollan características de lupus eritematoso sistémico. El DLE clásico se presenta como una mancha color rojo morado bien demarcada de una pápula con escamas superficiales. La lesión aumenta en tamaño en forma de moneda o placa discoide con hiperpigmentación periférica. Las escamas adherentes se extienden en folículos pilosos dilatados. El centro de la lesión se reduce con cicatrización, despigmentación y telangiectasia. Las placas pueden confluir para formar grandes lesiones desfigurativas. El folículo piloso se obstruye con escamas gruesas, que al quitarse revelan las puntas queratósicas, a lo que se le denomina *carpet tack sign*. Las características histopatológicas incluyen hiperqueratosis y obstrucción folicular, pérdida de la capa basal de epidermis organizada y una capa espinosa atrófica. La capa basal también puede demostrar edema, licuefacción, espesamiento de la membrana basal, aumento de la pigmentación de melanina e incontinencia pigmentaria. En la dermis se encuentra un infiltrado celular mononuclear de macrófagos y linfocitos T con células de plasma en lesiones crónicas que conducen al depósito de mucina.

El "lupus eritematoso inducido por fármacos" (DILE) es una variedad de enfermedad autoinmune que ocurre como efecto secundario del uso a largo plazo de ciertos medicamentos. Los síntomas de DILE son similares a los de SLE y pueden incluir fatiga, fiebre de baja, pérdida de apetito, dolor en los músculos, artritis, úlceras en la boca y en la nariz, sarpullido facial, sensibilidad inusual a la luz solar, leuritis, pericarditis y fenómeno de Raynaud. Las úlceras y sarpullidos son ejemplos de manifestaciones cutáneas de DILE. Los síntomas se resuelven a los días o meses después del abandono del fármaco culpable en un paciente que no presenta disfunción del sistema inmune subyacente. Los fármacos más comunes que provocan el DILE son hidralazina, procainamida, quinidina, isoniazid, diltiazem y minociclina. Algunos de estos fármacos (como procainamida, clorpromazina y quinidina) provocan la producción de anticuerpos antinucleares contra el dímero histona H2A-H2B. La hidralazina forma anticuerpos antinucleares para H1 y el complejo H3-H4. El DILE generalmente ocurre a los meses y años después del comienzo del uso del fármaco, en contraste con las erupciones de SLE que ocurren a las horas o días después del comienzo del uso del fármaco.

Un diagnóstico de DILE se realiza en un paciente que presenta uno o más síntomas clínicos de SLE (por ejemplo, artralgias, linfadenopatía, sarpullido, fiebre); presenta anticuerpos antinucleares; el paciente no presenta antecedentes de SLE antes del uso del fármaco culpable; tomó un fármaco dudoso en cualquier momento de 3 semanas a 2 años antes de la aparición de los síntomas; y la mejora clínica es rápida cuando se discontinúa el uso del fármaco, mientras que los anticuerpos antinucleares y otros marcadores serológicos disminuyen lentamente hacia niveles más normales.

"Superficies epiteliales" se refiere a un tejido compuesto por células epiteliales que cubren las superficies del cuerpo. Las superficies epiteliales incluyen las superficies externas como la piel y la mucosa de la boca y la nariz, así como los revestimientos de las superficies corporales internas. Las superficies epiteliales "externas" son aquellas expuestas a las superficies del cuerpo (como la piel, el revestimiento de la nariz y la boca) y a las que puede accederse para la aplicación directa de cremas y ungüentos a la superficie sin el uso de instrumentación (como endoscopios o escalpelos).

El "lupus eritematoso" (LE) es un término genérico para las varias enfermedades autoinmunes. Los síntomas de LE pueden afectar varios sistemas diferentes del organismo, incluidas las articulaciones, la piel, los riñones, las células sanguíneas, el corazón y los pulmones. El LE puede manifestarse como una enfermedad sistémica (que presenta manifestaciones cutáneas y otras) o como una enfermedad puramente cutánea (que afecta únicamente la piel). La forma sistémica de LE se conoce como lupus eritematoso sistémico (SLE). Entre las formas cutáneas de LE se encuentran lupus eritematoso cutáneo agudo, lupus eritematoso cutáneo subagudo y lupus eritematoso cutáneo crónico (lupus discoide descrito anteriormente).

El lupus eritematoso cutáneo agudo (ACLE) puede ser localizado o generalizado. El ACLE localizado se caracteriza por eritema sobre las eminencias malares del rostro y el caballote de la nariz (sarpullido en forma de mariposa) mientras que generalmente no se presentan en los pliegues nasolabiales. El sarpullido de ACLE puede tener una escamación de superficie fina y puede asociarse con edema, aunque casos particularmente severos pueden producir cambios vesiculobulosos en la piel. Los cambios histopatológicos incluyen infiltrado celular dérmico disperso, degeneración licuefactiva focal de la epidermis basal y edema dérmico superior. La necrosis epidérmica puede ocurrir en la mayoría de las formas serias.

El lupus eritematoso cutáneo subagudo (SCLE) se subdivide en dos variantes morfológicas: SCLE anular y SCLE papuloescamoso. El SCLE anular también ha sido denominado lupus marginatus, eritema simétrico, centrifugum, eritema anular autoinmune y lupus eritematoso gyratum repens. El SCLE se presenta con manchas y pápulas eritematosas que posteriormente se desarrollan en placas papuloescamosas o anulares. La mayoría de los pacientes tenderá a desarrollar predominantemente un tipo de lesión, aunque algunos mostrarán los elementos de ambos simultáneamente. El SCLE es muy sensible a la luz, con lesiones más comúnmente en el cuello y en el tórax superior, espalda superior, hombros, superficies de extensión de los brazos y antebrazos y el dorso de las manos (generalmente no se presentan en los nudillos). Es poco común que se presenten en el rostro y en el cuero cabelludo. Las características histopatológicas incluyen hiperqueratosis, degeneración de la capa de células basales y un infiltrado celular mononuclear en la unión dérmica/epidérmica y en la dermis.

Las “membranas mucosas” (o “mucosa”) son revestimientos mayoritariamente de origen endodérmico, cubiertos en el epitelio, que se encuentran implicados en la absorción y secreción. Revisten las cavidades que se encuentran expuestas al ambiente externo y a los órganos internos. Se continúan con la piel en varias ubicaciones, como las narinas, la boca, los labios, los párpados, las orejas, el área genital y el ano.

El “fármaco antiinflamatorio no esteroide (NSAID)” es un tipo de agente antiinflamatorio que funciona mediante la inhibición de la producción de prostaglandinas. Los NSAIDS ejercen acciones antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. Los ejemplos de NSAIDS incluyen ibuprofeno, cetoprofeno, piroxicam, naproxeno, sulindac, aspirina, subsalicilato de colina, diflunisal, fenoprofeno, indometacina, meclofenamato, salsalato, tolmetina y salicilato de magnesio. Estos agentes pueden administrarse oralmente, parenteralmente (por ejemplo, mediante inyección) o mediante aplicación tópica directa a un área inflamada y pueden combinarse con los compuestos de fórmula I y/o II en una formulación de combinación.

“Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal biológicamente compatible de un compuesto que puede utilizarse como un fármaco, cuyas sales se derivan de una variedad de contraiones orgánicos e inorgánicos bien conocidos en la técnica.

“Cantidad farmacéuticamente eficaz” o “cantidad terapéuticamente eficaz” se refieren a una cantidad de un compuesto suficiente para tratar un trastorno o enfermedad específico o uno o más de sus síntomas y/o para prevenir la ocurrencia de la enfermedad o trastorno. “Tratamiento” incluye detener el avance de una enfermedad así como revertir el trastorno, mediante la inducción de la regresión de lesiones o en algunos ejemplos, curar el trastorno.

Como se utiliza en la presente, la frase “disminuye de forma significativa las lesiones de DLE” significa una disminución estadísticamente significativa (como $p < 0.05$) en las lesiones de DLE como se mide en la práctica dermatológica estándar. Por ejemplo, puede evaluarse la disminución en las lesiones de DLE mediante el conteo de la cantidad de lesiones tratadas o el área de superficie total de la lesión o lesiones tratadas.

“Individuo” se refiere a individuos humanos y no humanos.

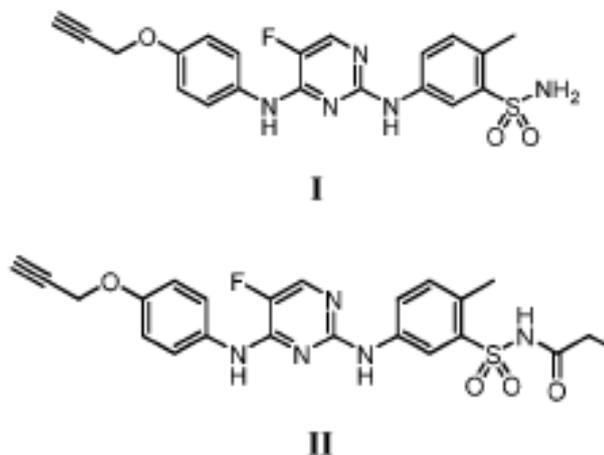
“Lupus eritematoso sistémico” o “SLE” es un trastorno autoinmune inflamatorio que ocurre predominantemente en las mujeres y se caracteriza por síntomas articulares, eritema en forma de mariposa, pleuritis recurrente, pericarditis, adenopatía generalizada, esplenomegalia así como implicancia en el Sistema Nervioso Central e insuficiencia renal progresiva. Los sueros de la mayoría de los pacientes (más del 98%) contienen anticuerpos antinucleares que incluyen anticuerpos anti-ADN. Los altos valores de anticuerpos anti-ADN son básicamente específicos para el SLE.

Administración “tópica” se refiere a la aplicación de una formulación que contiene un fármaco a la piel para tratar directamente los trastornos cutáneos o las manifestaciones cutáneas de una enfermedad con la intención de dirigir de forma sustancial el efecto farmacológico del fármaco a la superficie de la piel o dentro de la piel. Las formas de dosificación tópica generalmente son sistemas semisólidos, pero pueden incluir una variedad de otras formas de dosificación como espumas, pulverizadores, polvos medicados, soluciones y sistemas adhesivos medicados. La administración tópica incluye agentes tópicos externos que se esparcen, asperjan o de otro modo se dispersan sobre los tejidos cutáneos para cubrir el área afectada o agentes tópicos internos que se aplican a las membranas mucosas oralmente, vaginalmente o sobre tejidos ano rectales para la actividad focal. Los fármacos tópicos divulgados en la presente pueden administrarse en cualquier forma de dosificación tópica, por ejemplo, como un sólido (polvo, aerosol o yeso); líquido (loción, linimento, solución, emulsión, suspensión, aerosol) o semisólido (ungüento, crema, pasta, gel, gelatina o supositorio).

Compuestos

Se divulgan compuestos, las formas de sales correspondientes y los métodos para utilizar estos compuestos y formas de sales en el tratamiento de LE cutáneo como DLE.

Los compuestos I y II, así como sus formas de sales y composiciones farmacéuticas que los contienen, se describen en más detalle a continuación. El compuesto I también se denomina N2-(3-aminosulfonil-4-metilfenil)-5-fluoro-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiamina. El compuesto II también se denomina 5-fluoro-N2-(4-metil-3-propionilaminosulfonilfenil)-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiamina.



5 A efectos de la brevedad en la descripción, para cualquier realización en la que se haga referencia específicamente al compuesto I y al compuesto II, la realización también incluye su forma de sal y/o se utiliza una composición farmacéutica que contiene el compuesto I y/o el compuesto II.

10 El entendido en la técnica apreciará que el compuesto II es un profármaco del compuesto I y que el compuesto II no necesariamente tiene que ser farmacológicamente inactivo hasta convertirse en el compuesto I. El mecanismo mediante el cual se metaboliza el progrupo de propionilo no es crítico y puede causarse mediante, por ejemplo, hidrólisis en condiciones ácidas del estómago y/o mediante enzimas presentes en el tracto digestivo y/o tejidos u
 15 órganos del cuerpo, por ejemplo, esterasas, amidasas, lipolasas, fosfatasas, incluidas las ATPasas y quinasas, el citocromo P450 del hígado y similares. En realizaciones particulares descritas en la presente, los compuestos I y/o II se utilizan para tratar trastornos dermatológicos o cutáneos, como DLE y por consiguiente pueden administrarse directamente a la piel. Si se administra un profármaco inactivo, este puede activarse mediante enzimas (como esterasas) en la piel o administrarse tópicamente con otro agente que active el fármaco (por ejemplo, un depósito de una sustancia de activación en un parche o un agente adicional que se mezcla con el profármaco antes de las aplicaciones tópicas). En algunas realizaciones, la administración puede incluir no solamente administración tópica sino también inyección y similares, por ejemplo, inyección intradérmica o inyección intralesional. De forma alternativa, estos agentes activos pueden administrarse sistémicamente.

20 El entendido en la técnica apreciará que los compuestos I y II pueden mostrar el fenómeno de tautomerismo, isomerismo conformacional y/o isomerismo geométrico. Debe entenderse que la invención abarca cualesquiera formas tautoméricas, isoméricas conformacionales y/o isoméricas geométricas de los compuestos así como mezclas de estas varias formas isoméricas diferentes. Los atropisómeros son estereoisómeros que resultan de la rotación obstaculizada alrededor de los enlaces simples donde la barrera para la rotación es lo suficientemente alta para permitir el aislamiento de los conformadores (Eliel, E. L.; Wilen, S. H. *Stereochemistry of Organic Compounds*; Wiley & hermanos: Nueva York, 1994; capítulo 14). El atropisomerismo es significativo dado que introduce un elemento de quiralidad en la ausencia de átomos estereogénicos. La invención comprende atropisómeros, por ejemplo, en casos de rotación limitada alrededor de los enlaces entre la estructura nuclear de 2,4-pirimidinodiamina y los grupos unidos a esta o por ejemplo, alrededor de los enlaces entre el anillo de sulfonamida y el de fenilo al cual se encuentra unido.
 25 Los compuestos I y II pueden encontrarse en forma de sales. Dichas sales incluyen sales adecuadas para los usos farmacéuticos ("sales farmacéuticamente aceptables"), sales adecuadas para usos veterinarios, etc. Dichas sales pueden derivarse de ácidos o bases, como se conoce en la técnica. Las sales ejemplares descritas en la presente son sales de sodio, sales de potasio, sales de arginina, sales de colina y sales de calcio, pero genéricamente puede utilizarse cualquier sal farmacéuticamente aceptable en los métodos descritos en la presente. Debido a que el compuesto I y el compuesto II tienen grupos básicos, por ejemplo, nitrógenos de pirimidina y grupos ácidos, por ejemplo, protones ácidos sobre sulfonamida y/o los nitrógenos en N2 y N4 del sistema de pirimidinodiamina, estos compuestos pueden formar sales de adición de ácido o de base farmacéuticamente aceptables.

30 En una realización, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable. Generalmente, las sales farmacéuticamente aceptables son aquellas sales que retienen sustancialmente una o más de las actividades farmacológicas deseadas del compuesto madre y que son adecuadas para la administración a seres humanos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido, sales formadas con ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos adecuados para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo y no taxativo, ácidos de hidroháluro (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido hidroiódico, etc.), ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Los ácidos orgánicos adecuados para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo y no taxativo, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido
 45

oxálico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido palmítico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil) benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido alquilsulfónico (por ejemplo, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, etc.), ácidos arilsulfónicos (por ejemplo, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, etc.), ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico y similares.

Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales que se forman cuando un protón ácido presente en el compuesto madre se reemplaza con un ión metálico (por ejemplo, un ión de metal alcalino, un ión de metal alcalinotérreo o un ión de aluminio) o se coordina con una base orgánica (por ejemplo, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina, morfolina, piperidina, dimetilamina, dietilamina, trietilamina, amoniaco, etc.).

Los compuestos I y II, así como sus sales, también pueden encontrarse en forma de solvatos, por ejemplo, hidratos y N-óxidos, como se conoce en la técnica.

15 Métodos

La presente invención proporciona 2,4-pirimidinamina sustituida, los compuestos I y II, sales y sus composiciones farmacéuticas, para su uso en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos de la piel y/o de las membranas mucosas y en particular, las lesiones causadas por DLE. En particular, los compuestos I y II se administran solos o en combinación con otros agentes. Como se describe, el compuesto I y/o el compuesto II pueden administrarse como la forma madre y/o la forma de sal y como sus formulaciones farmacéuticas y pueden incluir agentes activadores para activar el profármaco del compuesto II en el compuesto I.

Como se utiliza en la presente y como se entiende en la técnica, el "tratamiento" es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluidos los resultados clínicos. A los efectos de la presente invención, los resultados beneficiosos o deseados pueden incluir uno o más, a modo no taxativo, de alivio o mitigación de uno o más síntomas, disminución del grado de una afección, incluida una enfermedad, estabilización (es decir, sin empeoramiento) del estado de una afección, incluida la enfermedad, prevención de la diseminación de la enfermedad, retraso o ralentización de la afección, incluida la enfermedad, evolución, mitigación o paliación de la afección, incluida la enfermedad, estado y recuperación (parcial o total) sea detectable o no detectable. Los compuestos I y II (al menos como una fuente del compuesto I) son eficaces y por consiguiente, pueden administrarse localmente (por ejemplo, tópicamente o mediante inyección a la piel o a la membrana mucosa) en dosis muy bajas, por lo que se minimizan los efectos sistémicos adversos. Se cree que este tratamiento también previene los efectos secundarios causados por los tratamientos más estándar (como corticosteroides) y son altamente eficaces debido a su aplicación directa a las áreas afectadas.

Los compuestos I y II son inhibidores eficaces y selectivos de las quinasas JAK 1 y en particular, en la señalización de citocina dependiente de JAK1/3 operativa en las células T y B y la señalización dependiente de Syk en macrófagos, células dendríticas y células B. Por ejemplo, el compuesto I tiene una concentración efectiva media máxima (EC₅₀) en los ensayos a base de células humanas contra JAK3 y Syk en el intervalo de 0.18 μM y 0.14 μM, respectivamente y casi no presenta o no presenta actividad sobre las otras citocinas (IL-1β y TNFα) o sobre la señalización del receptor de tirosina quinasa (RTK) y no es un inhibidor amplio de la proliferación celular. El compuesto I es particularmente selectivo para las vías de señalización de citocina que contienen JAK3. Como consecuencia de esta actividad, los compuestos pueden utilizarse en una variedad de contextos *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo* para regular o inhibir la actividad de la quinasa JAK, las cascadas de señalización en las que las quinasas JAK juegan un papel y las respuestas biológicas efectuadas por dichas cascadas de señalización. Por ejemplo, en una realización, los compuestos pueden utilizarse para inhibir la quinasa JAK, *in vitro* o *in vivo*, en casi todos los tipos de células que expresan la quinasa JAK (como las células hematopoyéticas). También pueden utilizarse para regular las cascadas de transducción de señal en las que las quinasa JAKs, particularmente JAK3 juegan un papel. Dichas cascadas de transducción de señal dependientes de JAK incluyen, a modo no taxativo, las cascadas de señalización de los receptores de citocina que implican la cadena gama común, como por ejemplo, las cascadas de señalización de los receptores IL-4, IL-7, IL-5, IL-9, IL-15 e IL-21 o IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21. Los compuestos también pueden utilizarse *in vitro* o *in vivo* para regular y en particular, inhibir las respuestas celulares o biológicas afectadas por dichas cascadas de transducción de señal dependientes de JAK. Tales respuestas celulares o biológicas incluyen, a modo no taxativo, regulación positiva de IL-4/ramos CD23, proliferación de células T mediada por IL-2, etc. De forma importante, los compuestos pueden utilizarse para inhibir las quinasas JAK *in vivo* como un enfoque terapéutico para el tratamiento o prevención de enfermedades mediadas, total o parcialmente, por la actividad de la quinasa JAK. Tales enfermedades se denominan "enfermedades mediadas por quinasa JAK".

Sin restringirse con ninguna consideración teórica, se cree que los compuestos descritos en la presente son tratamientos eficaces para estos trastornos cutáneos debido, al menos en parte, a su actividad inhibidora de JAK. Los ejemplos de enfermedades que son mediadas, al menos en parte, por las quinasas JAK que pueden tratarse o prevenirse de conformidad con los métodos incluyen enfermedades y trastornos de la piel o de las membranas mucosas, a modo no taxativo, las lesiones de LE cutáneo como DLE, ACLE, SCLE o DILE que se encuentran

presentes en la piel y en las membranas mucosas. No obstante, como resultado de las actividades mencionadas anteriormente, a pesar que los métodos descritos en la presente se dirigen al tratamiento de trastornos de la piel y la membrana mucosa, la administración de los compuestos y/o formulaciones puede conllevar otro beneficio terapéutico, esto es, en otros tejidos y órganos del cuerpo. Una realización es un método para tratar un trastorno o enfermedad de la piel o de las membranas mucosas (como DLE, ACLE, SCLE o DILE), donde también se presenta un beneficio secundario. Por ejemplo, la aplicación de los agentes activos a las lesiones de DLE en el párpado también puede servir como un tratamiento eficaz para ojos secos, síndrome del ojo seco, uveitis, conjuntivitis, glaucoma o rosácea (del ojo). El síndrome del ojo seco (DES), también conocido como queratoconjuntivitis sicca (KCS), queratitis sicca, síndrome sicca o xerofalmia, es una enfermedad del ojo causada por una producción inferior de lágrimas o una evaporación superior de la película lagrimal comúnmente encontrada en humanos y en algunos animales. Uveitis o iridociclitis se refiere a la inflamación de la capa media del ojo ("úvea") y en el uso común puede referirse a cualquier proceso inflamatorio que implique la parte interna del ojo. La conjuntivitis alérgica es la inflamación de la conjuntiva (la membrana que cubre la parte blanca del ojo) debido a la alergia. Glaucoma se refiere a un grupo de enfermedades que afectan el nervio óptico e implica una pérdida de células ganglionales en un patrón característico, es decir, un tipo de neuropatía óptica. El aumento en la presión ocular es un factor de riesgo significativo para el desarrollo de glaucoma (superior a 22 mmHg o 2.9 kPa) y los procesos inflamatorios, por ejemplo, uveitis, pueden provocar el aumento en la presión intraocular.

En una realización, el compuesto I y/o el compuesto II se utilizan para tratar cualquiera de las enfermedades y/o trastornos oculares mencionados anteriormente en combinación con el tratamiento de DLE. En una realización, el compuesto I y/o II se emplean como formas de sales. En una realización particular, el compuesto II se utiliza como una forma de sal. En una realización, la sal del compuesto II se selecciona de sal de sodio, sal de potasio, sal de calcio, sal de arginina y sal de colina.

Coadministración

Cuando los compuestos I y II se utilizan para tratar lesiones de la piel y/o membranas mucosas, estos pueden administrarse solos, como mezclas y/o en combinación con otros agentes útiles para la activar el profármaco o para tratar enfermedades y/o trastornos de la piel. Los compuestos I y II pueden administrarse como una mezcla o en combinación con agentes útiles para tratar otros trastornos o males, como esteroides, estabilizadores de membrana, inhibidores 5-lipoxigenasa (5LO), síntesis de leucotrienos e inhibidores de receptores, inhibidores de intercambio de isotipo IgE o síntesis de IgE, intercambio de isotipo IgG o síntesis de IgG, β -agonistas, inhibidores de triptasa, aspirina, inhibidores de ciclooxigenasa (COX), metotrexato, fármacos anti-TNF, rituxán, inhibidores de PD4, inhibidores de p38, inhibidores de PDE4 y antihistaminas, por nombrar algunos. Los compuestos I y II pueden administrarse *per se*, como composiciones farmacéuticas, que comprenden el compuesto activo.

Las composiciones farmacéuticas divulgadas en la presente pueden coadministrarse (simultáneamente o secuencialmente) con una variedad de otros tratamientos aplicados a la piel, por ejemplo, antibacterianos (como BACTROBAN o CLEOCIN); medicamentos antisoriasis (como Micanol); agentes antifúngicos (como LAMISIL, LOTRIMIN y NIZORAL); tratamientos para el acné (como preparaciones tópicas de peróxido de benzoilo); tratamientos para la dermatitis seborreica (como alquitrán de hulla); corticosteroides; retinoides (como Retin-A y Tazorac) que son geles o cremas derivadas de la vitamina A que se utilizan para tratar afecciones incluido el acné y tratamiento de verrugas (como ácido salicílico). Cualquiera de estos agentes puede proporcionarse en formulaciones tópicas o cosméticas, por ejemplo, en lociones, ungüentos, cremas, geles, jabones, shampoo o aplicadores adherentes como parches.

Las composiciones farmacéuticas divulgadas en la presente también pueden coadministrarse (simultáneamente o secuencialmente) con una variedad de otros tratamientos que no se aplican a la piel, por ejemplo, tratamientos que se administran sistémicamente, por ejemplo, oralmente o parenteralmente. Los ejemplos de dichos tratamientos sistémicos incluyen otros fármacos antilupus (como hidroxicloroquina (PLAQUENIL), corticosteroides (como prednisona), antibióticos (como eritromicina, tetraciclina y dicloxacilina), agentes antifúngicos (como ketoconazol y DIFLUCAN), agentes antivirales (como VALTrex, aciclovir y FAMVIR), corticosteroides, inmunosupresores (como CYTOXAN, azatioprina, metotrexato, micofenolato), y agentes biológicos (como RITUXAN, ENBREL, HUMIRA, REMICADE, STELARA y AMEVIVE).

Las terapias con inmunosupresores particulares que pueden utilizarse en combinación con los compuestos I y II incluyen, por ejemplo, mercaptopurina, corticosteroides como prednisona, metilprednisolona y prednisolona, agentes alquilantes como ciclofosfamida, inhibidores de calcineurina como ciclosporina, sirolimus y tacrolimus, inhibidores de inosina monofosfato dehidrogenasa (IMPDH) como micofenolato, micofenolato mofetil y azatioprina y agentes diseñados para suprimir la inmunidad celular mientras que dejan la respuesta inmunológica humoral del destinatario intacta, incluidos varios anticuerpos, por ejemplo, globulina antilinfocito (ALG), globulina antitimocito (ATG), anticuerpos anti células T monoclonales (OKT3) e irradiación. Estos varios agentes pueden utilizarse de conformidad con sus dosis estándar o comunes, como se especifica en la información de prescripción que acompaña a las formas de fármacos disponibles comercialmente (ver también, la información de prescripción en la edición del año 2006 de *The Physician's Desk Reference*). actualmente se encuentra disponible en Salix Pharmaceuticals, Inc. con el nombre comercial AZASAN; la mercaptopurina actualmente se encuentra disponible en Gate Pharmaceuticals, Inc. con el nombre comercial PURINETHOL; la prednisona y la prednisolona actualmente se encuentran disponibles

5 en Roxane Laboratories, Inc.; la prednisolona de metilo actualmente se encuentra disponible en Pfizer; el sirolimus (rapamicina) actualmente se encuentra disponible en Wyeth-Ayerst con el nombre comercial RAPAMUNE; el tacrolimus actualmente se encuentra disponible en Fujisawa con el nombre comercial PROGRAF; la ciclosporina actualmente se encuentra disponible en Novartis con el nombre comercial SANDIMMUNE y en Abbott con el nombre comercial GENGRAF; los inhibidores de IMPDH como el micofenolato mofetil y ácido micofenólico actualmente se encuentran disponibles en Roche con el nombre comercial CELLCEPT y en Novartis con el nombre comercial MYFORTIC; la azatioprina actualmente se encuentra disponible en Glaxo Smith Kline con el nombre comercial IMURAN; y los anticuerpos actualmente se encuentran disponibles en Ortho Biotech con el nombre comercial ORTHOCLONE, en Novartis con el nombre comercial SIMULECT (basiliximab) y en Roche con el nombre comercial ZENAPAX (daclizumab).

15 En una realización, el compuesto de fórmula I y/o II o su forma de sal farmacéuticamente aceptable, se administra en combinación o junto con una formulación oftálmica de un fármaco como una antihistamina, un antibiótico, un antiinflamatorio, un antiviral o un medicamento para el glaucoma. Dichas preparaciones de combinación son particularmente útiles para tratar los casos de DLE que afectan principalmente la piel alrededor de los ojos (como los párpados) y pueden administrarse alrededor del ojo, por ejemplo en gotas o ungüentos. Al preparar estas formulaciones de combinación el compuesto de fórmula I y/o II incluida su forma de sal farmacéuticamente aceptable, puede combinarse con antibióticos oftálmicos (como sulfacetamida, eritromicina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacina o ofloxacina); corticosteroides oftálmicos (como prednisolona, fluorometolona o dexametasona; antiinflamatorios oftálmicos no esteroideos (como ibuprofeno, diclofenac, ketorolac o flurbiprofeno); antihistaminas oftálmicas (como livostina, patanol, cromolina, alomida o feniramina); medicaciones antivirales oftálmicas (como triflurtimidina, adenina, arabinosida o idoxuridina); medicamentos oftálmicos para el glaucoma (por ejemplo, bloqueadores beta como timolol, metipranolol, carteolol, betaxolol o levobunolol); análogos de prostaglandina oftálmica (como latanoprost); agonistas colinérgicos oftálmicos (como pilocarpina o carbachol); agonistas alfa oftálmicos como bromonidina o iopidina; inhibidores anhidrasa carbónicos oftálmicos (como dorzolamida) y agonistas adrenérgicos oftálmicos (como epinefrina o dipivefrina).

Composiciones farmacéuticas

30 Las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos I y II descritos en la presente pueden fabricarse por medio de mezcla convencional, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulación, procesos de atrapamiento o liofilización. Las composiciones pueden formularse en una forma convencional mediante el uso de uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden utilizarse farmacéuticamente y particularmente, de forma local o tópica.

35 Los compuestos I y II pueden formularse en las composiciones farmacéuticas *per se* o en la forma de sal farmacéuticamente aceptable, como se describe en la presente. Típicamente, dichas sales son más solubles en soluciones acuosas que los ácidos y bases libres correspondientes, pero también pueden formarse sales que tengan una solubilidad menor a la de los ácidos y bases libres correspondientes.

En una realización, la formulación farmacéutica comprende el compuesto I y/o II y al menos un excipiente, diluyente, conservante o estabilizador farmacéuticamente aceptable o sus mezclas.

40 En una realización, los compuestos se proporcionan como sales farmacéuticamente aceptables como se establece anteriormente. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen sales de adición de ácido como las formadas con ácido clorhídrico, ácido fumárico, ácido p-toluenosulfónico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Las sales de los grupos amino también pueden comprender sales de amonio cuaternario en las que el átomo de nitrógeno amino tiene un grupo orgánico adecuado como una porción alquilo, alquenilo, alquinilo o aralquilo. Asimismo, cuando los compuestos descritos en la presente tienen una porción ácida, sus sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir sales metálicas como sales de metales alcalinos, por ejemplo, sales de sodio o potasio; y sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio o magnesio.

50 Las sales farmacéuticamente aceptables descritas en la presente pueden formarse con medios convencionales, como la reacción de la forma de base libre del producto con uno o más equivalentes del ácido adecuado en un solvente o en un medio en el que la sal es insoluble o en un solvente como agua que se elimina al vacío o mediante liofilización o intercambio de aniones de una sal existente por otro anión en una resina de intercambio de iones adecuada.

55 Los compuestos I y II pueden administrarse oralmente, parenteralmente (por ejemplo, mediante inyección o infusión intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, ICV, intracisternal, inyección subcutánea o implante), mediante spray de inhalación, administración nasal, vaginal, rectal, sublingual, uretral (por ejemplo, supositorio uretral) o vías de administración tópicas (por ejemplo, gel, ungüento, crema, aerosol, etc.) y pueden formularse solos o juntos en formulaciones de dosificación unitaria adecuadas que contienen vehículos, adyuvantes, excipientes y vehículos convencionales, farmacéuticamente aceptables no tóxicos, adecuados para cada vía de administración. Además del

tratamiento de animales de sangre caliente como ratones, ratas, caballos, ganado, ovejas, gatos, monos, etc., los compuestos descritos en la presente pueden ser eficaces en humanos.

5 Las composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos I y II pueden presentarse de forma conveniente en una forma de dosificación unitaria y pueden prepararse con cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse, por ejemplo, al asociar de forma uniforme y profunda el ingrediente activo con un vehículo líquido o un vehículo sólido finamente dividido o ambos, y después, si fuera necesario, darle forma al producto en la formulación deseada y/o colocarlo en un envase adecuado. En las formulaciones tópicas de los compuestos divulgados, la formulación se coloca en un recipiente adecuado (como un tubo exprimidor con una tapa para administrar ungüentos y cremas). De forma alternativa, el dispensador puede incluir un dispositivo para administrar dosis unitarias del fármaco (como un frasco o un cuentagotas que administra una dosis predeterminada controlada del fármaco al área diana). En la composición farmacéutica, el compuesto objeto activo se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden tomar una forma adecuada para casi cualquier modo de administración, incluida, por ejemplo la administración tópica, ocular, oral, bucal, sistémica, nasal, inyección, transdérmica, rectal, vaginal, etc. o una forma adecuada para la administración por inhalación o insuflación.

Para la administración tópica, el/los compuesto(s) selectivo(s) de JAK puede(n) formularse como soluciones, geles, ungüentos, cremas, suspensiones, etc. como se conoce en la técnica. Además de ser adecuadas para la administración a la piel, las soluciones, geles, ungüentos, cremas y suspensiones también son adecuadas para la administración directa al ojo. Una realización es una formulación farmacéutica que comprende el compuesto I y/o el compuesto II, donde la formulación se selecciona de una solución, un gel, un ungüento, una crema y una suspensión. En un aspecto, dichas formulaciones formuladas para la administración tópica incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto I y/o un compuesto II o su sal farmacéuticamente aceptable, como una sal de clorhidrato o una sal de besilato en el caso del compuesto I y, a modo de ejemplo, una sal de lisina, colina o arginina del compuesto II. Las realizaciones particulares de las formulaciones para su uso en los métodos descritos en la presente incluyen cantidades terapéuticamente eficaces del compuesto, una base tópica, un antioxidante, un emoliente y un emulsionante. El entendido en la técnica apreciará que la cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto puede variar, pero típicamente la cantidad terapéuticamente eficaz es de un 0.1% a un 10% (p/p).

La base tópica puede comprender polietilenglicol que tenga un peso molecular seleccionado. Las realizaciones particulares comprenden polietilenglicol que tiene un peso molecular de 3000 a 8000 daltons como una base tópica.

En ciertas realizaciones, la formulación es un ungüento y puede incluir además un solvente miscible en agua, como polialquilenglicol que tiene un peso molecular medio de 200 daltons a 600 daltons. En ciertas realizaciones, el solvente miscible en agua comprende PEG-400 e incluso más particularmente PEG-400 sustancialmente libre de impurezas. En ciertas realizaciones, el PEG-400 sustancialmente libre de impurezas comprende menos que 65 ppm de formaldehído, menos que 10 ppm de formaldehído o 1 ppm o menos de formaldehído.

Las formulaciones tópicas para su uso como se describe en la presente también pueden incluir un mejorador de penetración, como dimetil isosorbida, propilenglicol o sus combinaciones; un emoliente, como agua; un tensioactivo, como monoestearato de sorbitán, monoestearato de polietilenglicol D- α -tocoferil polietilenglicol 1000 succinato, una composición que comprende estearato de glicol/PEG32 estearato/PEG6 y combinaciones de tensioactivos; un antioxidante, como hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido ascórbico, un tocoferol y sus combinaciones, con realizaciones particulares que comprenden hidroxitolueno butilado como antioxidante; y un colorante opcional, como colorante caramelo de un 0.05% a un 0.25% (p/p).

Para realizaciones particulares, la cantidad terapéuticamente eficaz es de un 0.1 a un 10% (p/p) y la formulación farmacéutica comprende además: de un 15% a un 40% (p/p) de una base tópica, como polialquilenglicol con un peso molecular medio de 4000 a 5000 daltons; de un 25% a un 50% (p/p) de solvente miscible en agua, como polialquilenglicol con un peso molecular medio de 300 a 500 daltons; de un 10% a un 20% (p/p) de un mejorador de penetración, como dimetil isosorbida; de un 3% a un 15% (p/p) de un emoliente, como agua; de un 3% a un 9% (p/p) de un tensioactivo, como monoestearato de polietilenglicol; y de un 0.5% a un 1.5% (p/p) de hidroxitolueno butilado como antioxidante.

Otra realización de la formulación farmacéutica comprende de un 0.2% a un 6% (p/p) del compuesto I o su sal farmacéuticamente aceptable; de un 30% a un 40% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 4000 a 5000 daltons; de un 30% a un 40% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 300 a 500 daltons; de un 15% (p/p) de dimetil isosorbida; de un 3 a un 5% (p/p) de agua; de un 5% (p/p) de monoestearato de polietilenglicol; un 1% (p/p) de hidroxitolueno butilado; y un 0.05% de caramelo.

Otra realización de la formulación farmacéutica comprende un 1% (p/p) del compuesto I; de un 25% a un 40% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 4500 daltons; y de un 30% a un 45% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 400 daltons.

Otra realización de la formulación farmacéutica comprende un 3% (p/p) del compuesto I; un 32% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 4500 daltons; y de un 38% a un 42% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 400 daltons.

- 5 Otra realización de la formulación farmacéutica comprende un 6% (p/p) del compuesto I; un 35% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 4500 daltons; y de un 33% a un 35% (p/p) de polietilenglicol con un peso molecular medio de 400 daltons.

10 En una realización, la formulación es una solución. En otra realización, la formulación es un gel. En otra realización, la formulación es una suspensión. En aún otra realización, la formulación es una crema o un ungüento. Una realización es cualquiera de las formulaciones mencionadas anteriormente en un kit para la administración tópica o local. En una realización, la formulación es un líquido, por ejemplo, un líquido homogéneo o una suspensión, vendida en un frasco que administra la formulación como gotas o una película líquida (por ejemplo, de la punta del aplicador que entra en contacto con el área diana de la piel para administrar el líquido casi únicamente en el área diana de la piel que va a tratarse). En una realización, la formulación es una crema o un ungüento, vendido en un tubo que administra la formulación en el área diana de la piel. En otra realización, el compuesto se proporciona en un líquido viscoso (como carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polietilenglicol, glicerina, alcohol de polivinilo o gotas que contienen aceite) para frotarse en la piel o instilarse en el ojo. Las formulaciones pueden contener conservantes o pueden encontrarse libres de conservantes (por ejemplo, en un recipiente de un único uso).

20 Para el uso tópico, pueden utilizarse cremas, ungüentos, gelatinas, geles, soluciones o suspensiones etc., los compuestos I y II pueden utilizarse para fabricar una composición o un medicamento, incluidos los medicamentos adecuados para la administración tópica. En ciertas realizaciones, los compuestos I y II pueden formularse para la administración tópica con polietilenglicol (PEG). Estas formulaciones pueden comprender opcionalmente, ingredientes farmacéuticamente aceptables adicionales como diluyentes, estabilizadores y/o adyuvantes. En realizaciones particulares, las formulaciones tópicas se formulan para el tratamiento de enfermedades y/o trastornos de la piel, como lupus cutáneo, por ejemplo, lupus cutáneo crónico, como DLE.

25 Las formulaciones sistémicas incluyen aquellas diseñadas para la administración mediante inyección, por ejemplo, inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intratecal o intraperitoneal, así como las diseñadas para la administración transdérmica, transmucosa, oral o pulmonar.

30 Las preparaciones inyectables útiles incluyen suspensiones estériles, soluciones o emulsiones de compuestos activos en vehículos acuosos u oleosos. Las composiciones pueden contener agentes de formulación, como agentes de suspensión, estabilizadores y/o dispersantes o agentes activadores para activar el profármaco. Las formulaciones para la inyección pueden presentarse en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes de múltiples dosis y pueden contener conservantes adicionales. También pueden proporcionarse en jeringas, por ejemplo, jeringas con agujas para la inyección del fármaco en la piel, por ejemplo, directamente en la lesión de DLE.

35 De forma alternativa, la formulación inyectable puede proporcionarse en forma de polvo para la reconstitución con un vehículo adecuado, incluido a modo no taxativo, agua libre de pirógeno estéril, tampón, solución de dextrosa, etc. antes de su uso. El polvo puede incluir un agente de activación para un profármaco, que activa el profármaco cuando el polvo se solubiliza en un vehículo. Con este propósito, el/los compuesto(s) activo(s) puede(n) secarse mediante cualquier método conocido en la técnica, como la liofilización y reconstituirse antes de su uso.

40 Para la administración transmucosa se utilizan penetrantes adecuados para penetrar la barrera en la formulación. Dichos penetrantes son bien conocidos en la técnica e incluyen dimetil sulfóxido (DMSO) y dimetil isosorbida. No obstante, los penetrantes también pueden utilizarse para mejorar la administración de los agentes activos en la piel.

45 Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, grageas, comprimidos o cápsulas preparadas a través de medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetil celulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o fosfato de hidrógeno de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa, o glicolato de almidón de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos pueden recubrirse con los métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, azúcares, películas o recubrimientos entéricos. Además, las composiciones farmacéuticas que contienen 2,4-pirimidinadiazina sustituida como ingrediente activo en una forma adecuada para el uso oral, pueden incluir además, por ejemplo, tabletas, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas o jarabes o elixires. Las composiciones pensadas para el uso oral pueden prepararse de conformidad con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes que se seleccionan del grupo que consiste en agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Los comprimidos contienen el ingrediente activo (incluido el profármaco) mezclado con excipientes no tóxicos, farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato

- de sodio; agentes de granulación y desintegración (por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico); agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón, gelatina o acacia) y agentes lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco). Los comprimidos pueden no estar recubiertos o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y de ese modo proporcionar una acción sostenida durante un período más prolongado. Por ejemplo, puede emplearse un material que retrasa el tiempo, como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Pueden recubrirse mediante las técnicas descritas en la patente de Estados Unidos No. 4,256,108; 4,166,452; y 4,265,874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para una liberación controlada. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente también pueden encontrarse en forma de emulsiones de aceite en agua.
- 5 Las preparaciones líquidas para la administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, elixires, soluciones o suspensiones o pueden presentarse como un producto seco para la constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden prepararse a través de medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres oleosos, alcohol etílico, Cremofore® o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales reguladoras, conservantes, saborizantes, colorantes y agentes endulzantes según corresponda.
- 10 Las preparaciones para la administración oral pueden formularse de forma adecuada para proporcionar una liberación controlada del compuesto activo.
- 15 Para administración bucal, las composiciones pueden presentarse en forma de comprimidos o grageas formuladas de forma convencional.
- Para las vías de administración rectal y vaginal, el/los compuesto(s) activo(s) puede(n) formularse como soluciones (para enemas de retención) supositorios o ungüentos que contienen bases de supositorios convencionales como manteca de cacao u otros glicéridos.
- 20 El/los compuesto(s) activo(s) puede(n) administrarse convenientemente en forma de un pulverizador en aerosol con envases presurizados o un nebulizador con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, fluorocarbonos, dióxido de carbono u otro gas adecuado. Al administrar el profármaco, este puede liberarse y mezclarse junto con un agente de activación, por ejemplo, para activar el compuesto II en el compuesto I. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse mediante el suministro de una válvula para administrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos para su uso en un inhalador o insuflador (por ejemplo, cápsulas y cartuchos compuestos de gelatina) pueden formularse para contener una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada como lactosa o almidón.
- 25 Las composiciones farmacéuticas pueden encontrarse en forma de una suspensión inyectable, estéril, acuosa u oleaginosa. Esta suspensión puede formularse de conformidad con la técnica conocida mediante el uso de los agentes dispersantes o humectantes y de suspensión mencionados anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable, estéril en un diluyente o solvente no tóxico, parenteralmente aceptable. Entre los vehículos y solventes farmacéuticamente aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Los compuestos I y II también pueden administrarse en forma de supositorios para la administración rectal o uretral del fármaco. En realizaciones particulares, los compuestos pueden formularse como supositorios uretrales, por ejemplo, para su uso en el tratamiento de afecciones de fertilidad, particularmente en los hombres, por ejemplo, para el tratamiento de la disfunción testicular.
- 30 De conformidad con la invención, los compuestos de 2,4-pirimidinadiazina sustituida pueden utilizarse para la fabricación de una composición o un medicamento, incluidos los medicamentos adecuados para la administración rectal o uretral. La invención también se refiere a los métodos para la fabricación de composiciones que incluyen compuestos de 2,4-pirimidinadiazina sustituida en una forma adecuada para la administración uretral o rectal, incluidos los supositorios.
- 35 Entre los dispositivos que pueden utilizarse para administrar los ejemplos particulares de los compuestos I y II se encuentran los bien conocidos en la técnica, como inhaladores de dosis medidas, nebulizadores líquidos, inhaladores de polvo seco, pulverizadores, espumantes, vaporizadores térmicos y similares. Otra tecnología adecuada para la administración de los compuestos 2,4-pirimidinadiazina sustituida particulares incluye aerosoles electrohidrodinámicos. Los pulverizadores, aerosoles, aplicadores con punta de esponja y los dispensadores pueden utilizarse para administrar los compuestos, *per se* o en formulaciones, directamente a la piel o mediante inyección intradérmica directamente a las lesiones cutáneas de LE, como las lesiones de DLE.
- 40 Las formulaciones típicas para la administración a la piel contienen una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de 2,4-pirimidinadiazina divulgado en la presente, como de aproximadamente un 0.0001% a aproximadamente un 1.0% o mayor (p/p). En ciertas formulaciones, la cantidad farmacéuticamente eficaz del compuesto es de un 0.0003% a aproximadamente un 0.1% (p/p), como de aproximadamente un 0.003% a
- 45
- 50
- 55

aproximadamente un 0.5% (p/p), o de aproximadamente un 0.01% a aproximadamente un 0.03% (p/p). En otros ejemplos, el compuesto se encuentra presente en al menos un 2%, un 3% o un 5% (p/p).

En ciertos ejemplos, la composición oftálmica que contiene el compuesto de 2,4-pirimidinadamina divulgado en la presente para la administración ocular incluye un agente de tonicidad, un tampón o ambos. En ciertos ejemplos de las composiciones oftálmicas, el agente de tonicidad es un carbohidrato simple o un alcohol de azúcar. Como es bien conocido para los entendidos en la técnica, los agentes de tonicidad pueden utilizarse en las composiciones de la presente para ajustar la tonicidad de la composición, preferentemente a la de las lágrimas normales. Los ejemplos de agentes de tonicidad adecuados incluyen, a modo no taxativo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de calcio, carbohidratos como dextrosa, fructosa, galactosa, polioles, como alcoholes de azúcar, que incluyen a modo de ejemplo, manitol, sorbitol, xilitol, lactitol, isomalt, maltitol y sus combinaciones. Las composiciones que contienen un tampón, en algunos ejemplos, contienen fosfato, citrato o ambos.

El/los compuesto(s) de 2,4-pirimidinadamina sustituida descrito(s) en la presente o sus composiciones, generalmente se utilizarán en una cantidad eficaz para tratar o prevenir la afección particular que se está tratando. El/los compuesto(s) puede(n) administrarse terapéuticamente para lograr un beneficio terapéutico o profilácticamente para lograr un beneficio profiláctico. Beneficio terapéutico significa la erradicación o la mitigación del trastorno subyacente que se está tratando y/o la erradicación o la mitigación de uno o más de los síntomas asociados con el trastorno subyacente de forma tal que el paciente informa una mejora en la sensación o afección, sin perjuicio de que el paciente aún puede verse afligido por el trastorno subyacente. Por ejemplo, la administración de un compuesto a un paciente que padece DLE proporciona un beneficio terapéutico no solamente cuando la lesión dérmica subyacente se erradica o mitiga, sino también cuando el paciente informa una disminución en la seriedad o duración de los síntomas asociados con el DLE. El beneficio terapéutico también incluye detener o ralentizar el avance de la enfermedad, independientemente de si existe una mejora en los síntomas.

Para la administración profiláctica, el compuesto puede administrarse al paciente que tiene el riesgo de desarrollar una o más de las afecciones descritas anteriormente. Por ejemplo, si se sabe que el paciente es alérgico a un fármaco particular, el compuesto puede administrarse antes de la administración del fármaco para prevenir o mitigar una respuesta alérgica al fármaco. De forma alternativa, la administración profiláctica puede aplicarse para prevenir el comienzo de los síntomas en un paciente al que se le diagnosticó un trastorno subyacente. Por ejemplo, el compuesto puede administrarse a una persona alérgica antes de la exposición esperada al alérgeno. Los compuestos también pueden administrarse profilácticamente a individuos sanos que estuvieron expuestos en forma repetida a los agentes conocidos para uno de los males descritos anteriormente para prevenir el comienzo del trastorno. Por ejemplo, puede administrarse un compuesto a un individuo sano que se expuso en forma repetida a un alérgeno conocido por inducir una reacción alérgica en los ojos, como el polen, en un esfuerzo por prevenir el desarrollo de una alergia en el individuo.

La cantidad de compuesto administrada dependerá de una variedad de factores, incluidos, por ejemplo, la afección particular que se está tratando, el modo de administración, la seriedad de la afección que se está tratando y la edad y el peso del paciente, la biodisponibilidad del compuesto activo particular, etc. La determinación de la dosis eficaz se encuentra dentro de la capacidad de los entendidos en la técnica. El médico entendido podrá determinar la dosis óptima para un individuo particular. Las dosis eficaces pueden estimarse inicialmente a partir de los ensayos *in vitro*. Por ejemplo, la dosis inicial para el uso en animales puede formularse para alcanzar una concentración del compuesto activo en la sangre o en el suero en circulación que es igual o superior a la IC₅₀ del compuesto particular como se mide en un ensayo *in vitro*, como los ensayos *in vitro* descritos en los ejemplos 3 y 4 en la presente. De forma similar, la dosis inicial del profármaco para el uso sistémico en animales puede formularse para alcanzar una concentración en la sangre o en el suero en circulación del compuesto activo del metabolito que es igual o superior a la IC₅₀ del compuesto particular en un ensayo *in vitro*. El cálculo de las dosis para lograr dichas concentraciones en la sangre o en el suero en circulación teniendo en cuenta la biodisponibilidad del compuesto particular, es bien conocido por los entendidos en la técnica. Por orientación, el lector se refiere a Fingl & Woodbury, "General Principles," en: *Goodman and Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics*, capítulo 1, páginas 1 a 46, última edición, Pergamon Press y las referencias citadas en este.

Las dosis iniciales también pueden estimarse a partir de datos *in vivo*, mediante el uso de modelos animales como los divulgados en el ejemplo 9. Los modelos animales útiles para probar la eficacia de los compuestos para tratar o prevenir las varias enfermedades descritas anteriormente son bien conocidos en la técnica. Las cantidades de dosis para la administración sistémica generalmente se encontrarán en el intervalo de aproximadamente 0.0001 o 0.001 o 0.01 mg/kg/día a aproximadamente 100 mg/kg/día, pero pueden ser mayores o menores, en función, entre otros factores, de la actividad del compuesto, su biodisponibilidad, el modo de administración y los varios factores discutidos anteriormente. La cantidad de dosis sistémica y el intervalo puede ajustarse individualmente para proporcionar niveles en plasma de el/los compuesto(s) suficientes para mantener el efecto terapéutico o profiláctico. Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse una vez a la semana, varias veces a la semana (por ejemplo, día por medio), una vez al día o múltiples veces al día, en función de, entre otros factores, el modo de administración, la indicación específica que se está tratando y la opinión del médico prescriptor. En los casos de administración local o absorción selectiva, como la administración local tópica, puede que la concentración local eficaz de el/los compuesto(s) activos no esté relacionada con la concentración en plasma. Los entendidos en la técnica podrán optimizar las dosis locales eficaces sin demasiada experimentación. En vista del índice terapéutico ampliamente

superior de la administración tópica a la piel, las dosis pueden aumentarse más allá de las dosis sistémicas generales sin preocupación adicional significativa por los efectos secundarios y toxicidades.

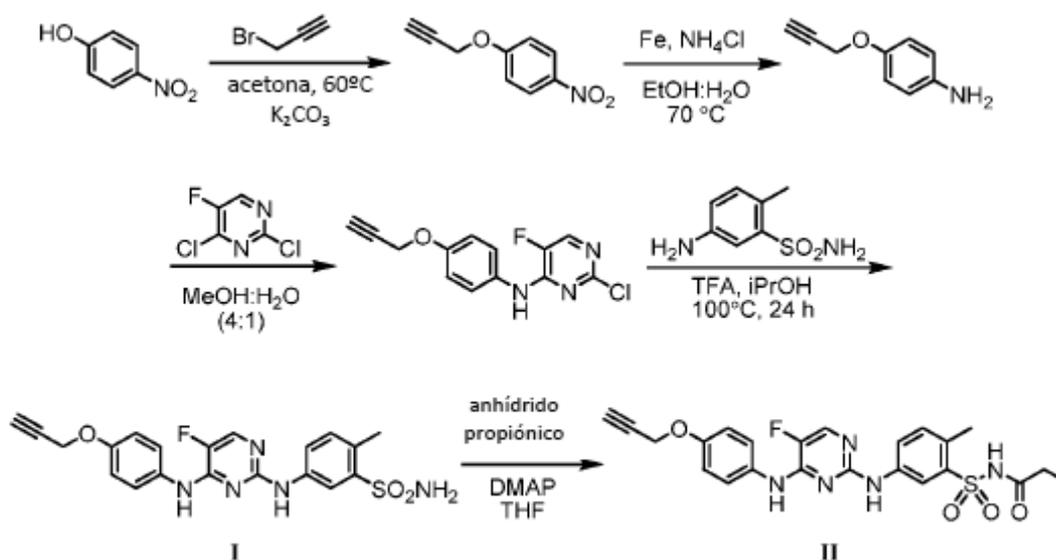
- 5 Para la administración tópica u ocular, las dosis eficaces pueden ser aquellas en las que ninguna circulación sistémica significativa de los compuestos resulta de la administración a la piel o al ojo, por ejemplo, donde la formulación tópica se aplica directamente a la lesión cutánea y se utiliza una dosis muy localizada antes de la circulación sistémica significativa.

El document US 7 491 732 divulga compuestos I y II para el tratamiento del lupus eritematoso sistémico.

Síntesis de compuestos

- 10 Los compuestos I y II así como las sales III a VII se sintetizan como se describe a continuación o por analogía a las síntesis descritas a continuación. El entendido en la técnica apreciará las síntesis alternativas.

Ejemplo 1



I: N2-(3-Aminosulfonyl-4-metilfenil)-5-fluoro-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina

- 15 4-Nitrofenol (1.00 g, 7.19 mmol), bromuro de propargilo (80 % en peso en tolueno; 0.788 mL, 7.09 mmol) y K₂CO₃ (1.08 g, 7.84 mmol) se combinaron y se agitaron en acetona (16.0 mL) a 60°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua (200 mL). Se aisló 4-(prop-2-iniloxi)nitrobenzeno como un sólido blanco mediante filtración por succión (1.12 g). ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.22 (d, J= 9.0 Hz, 2H), 7.05 (d, J= 9.0 Hz, 2H), 4.80 (d, J= 2.4 Hz, 2H), 2.59 (t, J= 2.4 Hz, 1H).

- 20 4-(Prop-2-iniloxi)nitrobenzeno (0.910 g, 5.13 mmol), hierro (1.42 g, 25.3 mmol), y NH₄Cl (0.719g, 12.8 mmol) se agitaron vigorosamente en EtOH/agua (1:1, 55 mL) a 70 °C durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró mientras estaba caliente a través de tierra diatomácea y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en metanol amoniacal 2N al 10% en diclorometano, se sonicó y se filtró a través de tierra diatomácea. La concentración proporcionó 4-(prop-2-iniloxi)anilina como un aceite que se utilizó sin purificación adicional. ¹H NMR (CDCl₃): δ 6.82 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 6.64 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 4.61 (d, J= 2.4 Hz, 2H), 2.50 (t, J= 2.4 Hz, 1H).

- 25 4-(prop-2-iniloxi)anilina (0.750 g, 5.10 mmol) y 2,4-dicloro-5-fluoropirimidina (1.27 g, 0.760 mmol, disponible comercialmente en Sigma-Aldrich de Milwaukee, Wisconsin, EE.UU.) se agitaron en MeOH/agua (4:1, 35 mL) a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (200 mL) y se lavó con HCl 1N (50 mL) y salmuera (50 mL). La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, los hexanos se lanzaron a EtOAc:hexanos (1:10)) para proporcionar 2-cloro-5-fluoro-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-4-pirimidinamina como un sólido color marrón claro (0.514 g). ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.03 (d, J= 2.7 Hz, 1H), 7.53 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 7.02 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 6.86 (s, 1H), 4.71 (d, J= 2.4 Hz, 2H), 2.55 (t, J= 2.4 Hz, 1H); LCMS: pureza: 99%; MS (m/e): 279 (MH⁺).

- 35 2-Cloro-5-fluoro-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-4-pirimidinamina (0.514 g, 1.85 mmol), 3-(aminosulfonyl)-4-metilfenilina (0.689 g, 3.70 mmol, preparados mediante la reducción de 2-metil-5-nitrobenzenosulfonamida disponible comercialmente o sintetizado como se describe a continuación) y ácido trifluoroacético (0.186 mL, 2.41 mmol) se combinaron con iPrOH (6.0 mL) en un frasco sellado y se calentaron a 100°C durante 3 horas. La mezcla de

reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con HCl 1N (80 mL). N2-(3-Aminosulfonil-4-metilfenil)-5-fluoro-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina (I) se aisló como un sólido blanco mediante filtración por succión (0.703 g). ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 10.08 (bs, 2H), 8.19 (d, J= 4.5 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.74 (dd, J= 2.4 y 8.4 Hz, 1H), 7.58 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 7.32 (bs, 2H), 7.23 (d, J= 8.4 Hz, 1H), 6.97 (d, J= 8.4 Hz, 2H), 4.79 (d, J= 2.1 Hz, 2H), 3.59-3.55 (m, 1H), 2.53 (s, 3H); LCMS: pureza: 97%; MS (m/e): 428 (MH⁺).

II: 5-fluoro-N2-(4-metil-3-propionilaminosulfonilfenil)-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina

N2-(3-Aminosulfonil-4-metilfenil)-5-fluoro-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina, I, (0.200 g, 0.467 mmol), DMAP (40 mg, 0.33 mmol) y trietilamina (0.118 mL, 0.847 mmol) se agitaron en THF (6.0 mL). Se agregó anhídrido propiónico (0.180 mL, 1.40 mmol) a la solución por goteo. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La solución se diluyó con acetato de etilo (50 mL) y se lavó con agua (5 x 25 mL) y salmuera (10 mL). La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó. El residuo se suspendió en acetato de etilo (25 mL), se sonicó y el sólido se recolectó mediante filtración para proporcionar 5-fluoro-N2-(4-metil-3-propionilaminosulfonilfenil)-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina, II, (0.20 g). ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 12.01 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.16 (d, J= 2.4 Hz, 1H), 8.06 (dd, J= 0.3 y 3.3 Hz, 1H), 8.00 (dd, J= 2.1 y 7.8 Hz, 1H), 7.69 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 7.19 (d, J= 8.4 Hz, 1H), 6.95 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 4.77 (d, J= 2.1 Hz, 2H), 3.56 (t, J= 2.1 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.24 (q, J= 7.2 Hz, 2H), 0.89 (t, J= 7.2 Hz, 3H); LCMS: pureza: 98%; MS (m/e): 484 (MH⁺)

III: Sal monosódica de 5-fluoro-N2-(4-metil-3-propionilaminosulfonilfenil)-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina

Se suspendió 5-Fluoro-N2-(4-metil-3-propionilaminosulfonilfenil)-N4-[4-(prop-2-iniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina, II, (0.125 g, 0.258 mmol) en acetonitrilo (1.5 mL) y agua (1.5 mL) y se enfrió en un baño de hielo. Se agregó por goteo una solución de NaOH acuosa 1N (0.260 mL). La mezcla de reacción se agitó hasta que se volvió transparente, se filtró a través de lana de vidrio y se liofilizó para proporcionar la sal de sodio de II. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 9.17 (bs, 2H), 8.01 (d, J= 3.6 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.78-7.69 (m, 3H), 6.99-6.92 (m, 3H), 4.76 (d, J= 2.1 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 1.95 (q, J= 7.2 Hz, 2H), 0.86 (t, J= 7.2 Hz, 3H); LCMS: pureza: 98%; MS (m/e): 484 (MH⁺).

Los siguientes compuestos se prepararon de una forma similar a la de los anteriores.

IV: Sal de potasio de 5-Fluoro-N2-[4-metil-3-(N-propionilaminosulfonil)fenil]-N4-[4-(2-propiniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina

¹H NMR (DMSO-d₆): 9.16 (s, 1H), 9.14 (s, 1H), 8.01 (d, J= 3.6 Hz, 1H), 7.85 (d, J= 2.1 Hz, 1H), 7.75-7.70 (m, 3H), 6.97-6.92 (m, 3H), 4.76 (d, J= 1.8 Hz, 2H), 3.55 (t, J= 2.4 Hz, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.91 (q, J= 7.5 Hz, 2H), 0.85 (t, J= 7.5 Hz, 3H); LCMS: pureza: 97%; MS (m/z): 484 (madre, MH⁺).

V: Sal de calcio de 5-Fluoro-N2-[4-metil-3-(N-propionilaminosulfonil)fenil]-N4-[4-(2-propiniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 9.16 (s, 2H), 8.00 (d, J= 3.6 Hz, 1H), 7.88 (d, J= 1.8 Hz, 1H), 7.75-7.69 (m, 3H), 6.97-6.92 (m, 3H), 4.76 (d, J= 1.8 Hz, 2H), 3.55 (t, J= 2.1 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 1.94 (q, J= 7.5 Hz, 2H), 0.87 (t, J= 7.5 Hz, 3H); LCMS: pureza: 98%; MS (m/z): 484 (madre, MH⁺)

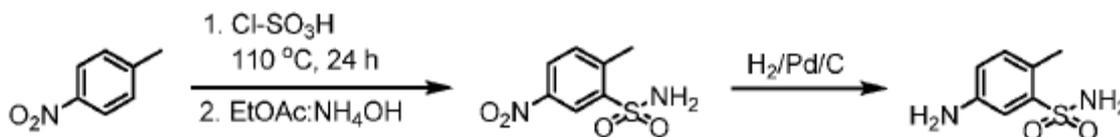
VI: Sal de arginina de 5-Fluoro-N2-[4-metil-3-(N-propionilaminosulfonil)fenil]-N4-[4-(2-propiniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina

¹H NMR (D₂O): δ 7.61 (d, J= 3.9 Hz, 1H), 7.57-7.55 (m, 1H), 7.36-7.31 (m, 1H), 7.12 (d, J= 8.7 Hz, 2H), 6.88 (d, J= 8.7 Hz, 1H), 6.72 (d, J= 9.0 Hz, 2H), 4.77-4.75 (m, 2H), 3.60 (t, J= 6.0 Hz, 1H), 3.09 (t, J= 6.9 Hz, 2H), 2.84-2.81 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.03 (q, J= 5.7 Hz, 2H), 1.80-1.72 (m, 2H), 1.61-1.48 (m, 2H), 0.855 (t, J= 7.5 Hz, 3H); LCMS: pureza: 98%; MS (m/z): 484 (madre, MH⁺).

VII: Sal de colina de 5-Fluoro-N2-[4-metil-3-(N-propionilaminosulfonil)fenil]-N4-[4-(2-propiniloxi)fenil]-2,4-pirimidinadiazina

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 9.16 (s, 2H), 8.00 (d, J= 3.6 Hz, 1H), 7.85 (d, J= 1.8 Hz, 1H), 7.75-7.69 (m, 3H), 6.97-6.90 (m, 3H), 5.27 (t, J= 4.8 Hz, 1H), 4.76 (d, J= 1.8 Hz, 2H), 3.86-3.77 (m, 2H), 3.56-3.54 (m, 1H), 3.40-3.54 (m, 2H), 3.08 (s, 9H), 2.42 (s, 3H); LCMS: pureza: 99%; MS (m/z): 484 (madre, MH⁺).

Ejemplo 2



5-amino-2-metilbencenosulfonamida

Se trató 4-metilnitrobenzoceno (20 mmol) a 0 °C con ácido clorosulfónico (5.29 mL, 80 mmol) y después de llevar la solución homogénea a temperatura ambiente, se agitó a 110°C durante 24 horas. A continuación la lechada resultante se vertió sobre agua helada (100gm), extraída con éter dietílico (3 x 75 mL) y la fase orgánica se lavó con agua (75mL) y después se secó sobre sulfato de sodio anhidro. A continuación se eliminó el solvente a presión reducida para proporcionar el cloruro de sulfonilo crudo que se recogió en acetato de etilo y se agitó con hidróxido de amonio durante la noche a temperatura ambiente. Después que la capa de acetato de etilo se separó, la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se eliminó el solvente a presión reducida. El aceite obtenido se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, hexanos y después acetato de etilo al 10%, 20% hasta 50% en hexanos para proporcionar 3-aminosulfonil-4-metilnitrobenzoceno, LCMS: pureza: 95 %; MS (m/e): 217 (MH⁺).

A una solución de 3-aminosulfonil-4-metilnitrobenzoceno en diclorometano y metanol se le agregó Pd/C al 10 % y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno a 50 psi durante 15 minutos. La mezcla se filtró con tierra diatomácea y la torta de filtrado se lavó con metanol. Los solventes orgánicos combinados se concentraron bajo presión reducida para proporcionar el producto crudo, que se purificó de forma adicional mediante cromatografía de columna (acetato de etilo:hexanos 1:1) para proporcionar 3-aminosulfonil-4-metilnitrobenzoceno, LCMS: pureza: 87%; MS (m/e): 187 (MH⁺).

Ejemplo 3**Ensayo para la línea celular B de Ramos estimulada con IL-4**

Un medio para evaluar la inhibición de JAK es la detección del efecto de los compuestos I y II sobre la regulación positiva de los productos de genes corriente abajo. En el ensayo Ramos/IL4 las células B se estimulan con la citocina interleucina-4 de (IL-4) lo que conduce a la activación de la vía JAK/Stat mediante la fosforilación de las quinasas de la familia JAK, JAK1 y JAK3, que a su vez fosforila y activa el factor de transcripción Stat-6. Uno de los genes regulados positivamente por Stat-6 activado es el receptor de IgE de afinidad baja, CD23. Para estudiar el efecto de los inhibidores (por ejemplo, los compuestos de 2,4-pirimidinadiazina sustituida descritos en la presente) sobre las quinasas JAK1 y JAK3, las células B de Ramos humanas se estimulan con IL-4 humana. De 20 a 24 horas después de la estimulación, las células se tiñen para la regulación positiva de CD23 y se analizan mediante el uso de citometría (FACS). La reducción en la cantidad de CD23 presente en comparación con las condiciones de control indica que el compuesto de prueba inhibe de forma activa la vía de quinasa JAK. Un ensayo ejemplar de este tipo se describe en más detalle a continuación.

Las células B estimuladas con la citocina Interleucina-4 (IL-4) activan la vía de JAK/Stat mediante la fosforilación de la familia de quinasas JAK, JAK-1 y JAK-3, que a su vez fosforilan y activan la transcripción del factor Stat-6. Uno de los genes regulados positivamente por Stat-6 es el receptor de IgE de afinidad baja, CD23. Para estudiar el efecto de los inhibidores sobre las quinasas de la familia JAK, las células B de Ramos se estimulan con IL-4 humana.

La línea celular B de Ramos se adquirió en ATCC (ATCC catálogo No. CRL-1596). Las células se cultivaron en RPMI 1640 (Cellgro, MediaTech, Inc., Herndon, VA, catálogo No. 10-040-CM) con suero bovino fetal al 10 % (FBS), se inactivaron con calor (JRH Biosciences, Inc, Lenexa, Kansas, catálogo No. 12106-500M) de conformidad con el protocolo de propagación de ATCC. Las células se mantuvieron a una densidad de 3.5×10^5 . El día anterior al experimento, las células B de Ramos se diluyeron con 3.5×10^5 células/mL para asegurarse de que estuvieran en la fase de crecimiento logarítmico.

Las células se centrifugaron y se suspendieron en RPMI con suero al 5%. Se utilizaron 5×10^4 células por punto en una placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos. Las células se incubaron previamente con el compuesto o el vehículo de control DMSO (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, catálogo No. D2650) durante 1 hora en una incubadora a 37 °C. A continuación las células se incubaron con IL-4 (PeproTech Inc., Rocky Hill, NJ, catálogo No. 200-04) para llegar a una concentración final de 50 unidades/mL durante 20 a 24 horas. A continuación las células se centrifugaron y se tiñeron con anti-CD23-PE (BD Pharmingen, San Diego, CA, catálogo No. 555711) y se analizaron con FACS. La detección se realizó mediante el uso de un citómetro de flujo con sistema BD LSR I, comprado a Becton Dickinson Biosciences de San Jose, California. La IC₅₀ calculada con base en los resultados de este ensayo se proporciona en la tabla 1.

Ejemplo 4**Ensayo de proliferación de células T humanas primarias estimuladas con IL-2**

La actividad de JAK de los compuestos descritos en la presente puede caracterizarse además por evaluar el efecto de los compuestos I y II descritos en la presente sobre la respuesta proliferativa de las células T humanas primarias. En este ensayo, las células T primarias humanas derivadas de la sangre periférica y activadas previamente a través de la estimulación del receptor de células T y CD28, proliferan en el cultivo en respuesta a la citocina interleucina-2 (IL-2). Esta respuesta proliferativa depende de la activación de las tirosina quinasas JAK1 y JAK3, que se fosforilan y activan el factor de transcripción Stat-5. Las células T primarias humanas se incuban con los compuestos I y II en la

presencia de IL-2 durante 72 horas y en el criterio de valoración del ensayo las concentraciones de ATP intracelular se miden para evaluar la viabilidad de la célula. La reducción en la proliferación celular en comparación con las condiciones de control indica la inhibición de la vía de quinasa JAK. Un ensayo ejemplar de este tipo se describe en mayor detalle a continuación.

- 5 Las células T primarias humanas derivadas de la sangre periférica y activadas previamente a través de la estimulación del receptor de células T y CD28, proliferan *in vitro* en respuesta a la citocina interleucina-2 (IL-2). Esta respuesta proliferativa depende de la activación de las tirosina quinasa JAK-1 y JAK-3, que se fosforilan y activan el factor de transcripción Stat-5.

10 Las células T humanas primarias se prepararon en la siguiente forma. Se obtuvo sangre entera de un voluntario saludable, esta se mezcló en una proporción 1:1 con PBS, se estratificó en Ficoll Hypaque (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, catálogo #17-1440-03) en una proporción 2:1 sangre/PBS:ficoll y se centrifugó durante 30 minutos a 4°C a 1750 rpm. Los linfocitos en la interfaz suero: ficoll se recuperaron y se lavaron dos veces con 5 volúmenes de PBS. Las células se volvieron a suspender en medio de Yssel (Gemini Bioproducts, Woodland, CA, catálogo #400-103) que contenía 40 U/mL de recombinante IL2 (R and D Systems, Minneapolis, MN, catálogo #202-IL (20 µg)) y se sembraron en un matraz cubierto previamente con 1 µg/mL de anti-CD3 (BD Pharmingen, San Diego, CA, catálogo #555336) y 5 µg/mL de anti-CD28 (Immunotech, Beckman Coulter de Brea California, catálogo #IM1376). Las células T primarias se estimularon durante 3 a 4 días, después se transfirieron a un matraz nuevo y se mantuvieron en RPMI con FBS al 10% y 40 U/mL de IL-2.

20 Las células T primarias se lavaron dos veces con PBS para eliminar la IL-2 y se volvieron a suspender en medio de Yssel a 2×10^6 células/mL. Se agregaron 50 µL de suspensión celular que contenía 80 U/mL de IL-2 a cada placa de color negro de 96 pocillos, de fondo plano. Para el control sin estimulación, se omitió la IL-2 de la última columna en la placa. Los compuestos se diluyeron en serie en dimetil sulfóxido (DMSO, 99.7% de pureza, cultivo celular probado, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, catálogo No. D2650) de 5 mM en 3 diluciones y después se diluyeron en una proporción 1:250 en medio de Yssel. Se agregaron 50 µL del compuesto diluido 2 veces por pocillo por duplicado y las células se dejaron proliferar durante 72 horas a 37°C.

25 La proliferación se midió mediante el uso del ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (Promega), que determina la cantidad de células viables en el cultivo con base en la cuantificación de ATP presente, como un indicador de células metabólicamente activas. El sustrato se descongeló y se dejó llegar a temperatura ambiente. Después de mezclar el reactivo Cell Titer-Glo y el diluyente, se agregaron 100 µL a cada pocillo. Las placas se mezclaron sobre un agitador orbital durante dos minutos para inducir la lisis y se incubaron a temperatura ambiente durante unos diez minutos adicionales para permitir que la señal se equilibrara. La detección se realizó mediante el uso de un contador multietiquetas Wallac Victor2 1420 comprado en Perkin Elmer, Shelton, CT. La IC₅₀ calculada con base en los resultados de este ensayo se proporciona en la tabla 1.

Ejemplo 5

35 Línea epitelial A549 estimulada con IFN γ

La actividad de JAK de los compuestos descritos en la presente puede caracterizarse además por evaluar el efecto de los compuestos I y II descritos en la presente sobre las células epiteliales del pulmón A549 y las células U937. Las células epiteliales del pulmón A549 y las células U937 regulan positivamente la expresión superficial de ICAM-1 (CD54) en respuesta a una variedad de diferentes estímulos. Por consiguiente, con el uso de la expresión de ICAM-1 como una lectura, los efectos del compuesto de prueba sobre las diferentes vías de señalización pueden evaluarse en el mismo tipo celular. La estimulación con IL-1 β a través del receptor de IL-1 β activa la vía TRAF6 / NF κ B lo que resulta en la regulación positiva de ICAM-1. El IFN γ induce la regulación positiva de ICAM-1 mediante la activación de la vía de JAK1/JAK2. La regulación positiva de ICAM-1 puede cuantificarse mediante citometría de flujo a lo largo de la curva de dosis del compuesto y se calculan los valores de EC₅₀. Los ensayos ejemplares de este tipo se describen en mayor detalle a continuación y en el ejemplo 6.

45 Las células epiteliales del pulmón A549 regulan positivamente la expresión superficial de ICAM-1 (CD54) en respuesta a una variedad de diferentes estímulos. Por consiguiente, con el uso de la expresión de ICAM-1 como una lectura, los efectos del compuesto sobre las diferentes vías de señalización pueden evaluarse en el mismo tipo celular. El IFN γ regula positivamente ICAM-1 mediante la activación de la vía de JAK/Stat. En este ejemplo, se evaluó la regulación positiva de ICAM-1 por IFN γ .

55 La línea celular de carcinoma epitelial de pulmón A549 se originó a partir de American Type Culture Collection. El cultivo de rutina se realizó con un medio F12K (Mediatech Inc., Lenexa, KS, catálogo No. 10-025-CV) con suero bovino fetal al 10%, 100 I.U. de penicilina y 100 ng/mL de estreptomina (medio F12k completo). Las células se incubaron en una atmósfera húmeda de CO₂ al 5% a 37 °C. Antes de su uso en el ensayo, las células A549 se lavaron con PBS y se tripsinizaron (Mediatech Inc., catálogo No. 25-052-CI) para levantar las células. La suspensión celular de tripsina se neutralizó con medio F12K completo y se centrifugó para granular las células. El granulado celular se volvió a suspender en medio F12K completo a una concentración de 2.0×10^5 /mL. Las células se

sembraron a 20000 por pocillo, 100 μ L del volumen total, en una placa de cultivo de tejidos de fondo plano y se dejó adherir durante la noche.

5 En el día dos, las células A549 se incubaron previamente con el compuesto de prueba 2,4-pirimidinadiazina sustituida o DMSO (control) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, catálogo No. D2650) durante 1 hora. A continuación las células se estimularon con IFN γ (75 ng/mL) (Peprtech Inc., Rocky Hill, NJ, catálogo No. 300-02) y se dejaron incubarse durante 24 horas. El intervalo de dosis del compuesto de prueba final fue de 30 μ M a 14 nM en 200 μ L de medio F12K que contenía FBS al 5%, DMSO al 0.3%.

10 En el día tres, el medio celular se quitó y las células se lavaron con 200 μ L de PBS (solución salina tamponada con fosfato). Cada pocillo se tripsinizó para desasociar las células, después se neutralizó mediante la adición de 200 μ L de medio F12K completo. Las células se granularon y se tiñeron con el anticuerpo ICAM-1 antihumano de ratón conjugado por APC (CD54) (BD Pharmingen, San Diego, CA, catálogo #559771) durante 20 minutos a 4°C. Las células se lavaron con tampón FACS helado (PBS + FBS al 2%) y la expresión superficial de ICAM-1 se analizó mediante citometría de flujo. La detección se realizó mediante el uso de un citómetro de flujo con sistema BD LSR I, comprado a Becton Dickinson Biosciences de San Jose, California. Los eventos se controlaron para determinar la dispersión activa y se calculó la media geométrica (software Becton-Dickinson CellQuest versión 3.3, Franklin Lakes, NJ). Las medias geométricas se graficaron contra la concentración del compuesto para generar una curva de respuesta a la dosis. La IC₅₀ calculada con base en los resultados de este ensayo se proporciona en la tabla 1.

Ejemplo 6

Ensayo de U937 IFN γ ICAM1 FACS

20 Las células monolíticas humanas U937 regulan positivamente la expresión superficial de ICAM-1 (CD54) en respuesta a una variedad de diferentes estímulos. Por consiguiente, con el uso de la expresión de ICAM-1 como una lectura, los efectos del compuesto sobre las diferentes vías de señalización pueden evaluarse en el mismo tipo celular. El IFN γ regula positivamente ICAM-1 mediante la activación de la vía de JAK/Stat. En este ejemplo, se evaluó la regulación positiva de ICAM-1 por IFN γ .

25 La línea celular monocítica humana U937 se obtuvo en ATCC de Rockville Maryland, catálogo No. CRL-1593.2 y se cultivó en el medio RPM1-1640 que contenía FCS al 10% (v/v). Las células U937 se cultivaron en RPMI al 10%. A continuación las células se colocaron en placas a una concentración de 100000 células por 160 μ L en placas de fondo plano de 96 pocillos. A continuación los compuestos de prueba se diluyeron de la siguiente forma: 10 mM del compuesto de prueba se diluyeron en una proporción 1:5 en DMSO (3 μ L de compuesto de prueba 10 mM en 12 μ L de DMSO), a continuación se realizó una dilución en serie 1:3 del compuesto de prueba en DMSO (6 μ L de compuesto de prueba diluido en serie en 12 μ L de DMSO para proporcionar diluciones de 3 veces). A continuación, 4 μ L del compuesto de prueba se transfirieron a 76 μ L de RPMI al 10% lo que resultó en una solución de 10 veces (100 μ M de compuesto de prueba, DMSO al 5%). Para los pocillos de control, se diluyeron 4 μ L de DMSO en 76 μ L de RPMI al 10%.

35 El ensayo se realizó por duplicado con 8 puntos (concentraciones de dilución de 8 3 veces a partir de 10 μ l) y con 4 pocillos de DMSO únicamente (pocillos de control) en condiciones de estimulación y 4 pocillos de DMSO únicamente en condiciones sin estimulación.

40 La placa del compuesto diluido se mezcló 2 veces mediante el uso de un automuestreador multimek (Beckman Coulter of Brea, California) y después 20 μ L de los compuestos diluidos se transfirieron a la placa de 96 pocillos que contenía 160 μ L de células, que después se mezclaron nuevamente dos veces a velocidades bajas. Las células y los compuestos después se incubaron previamente durante 30 minutos a 37 °C con CO₂ al 5%.

45 La mezcla de estimulación se preparó mediante la preparación de una solución de 100 ng/mL de IFN γ humano en RPMI al 10%. Las células y el compuesto a continuación se estimularon con 20 μ L de la mezcla de estimulación de IFN γ para proporcionar una concentración final de 10 ng/mL de IFN γ , 10 μ M del compuesto de prueba y DMSO al 0.5%. Las células se mantuvieron en condiciones de estimulación durante 18 a 24 horas a 37 °C con CO₂ al 5%.

50 Las células se transfirieron a una placa de fondo redondo de 96 pocillos para la tinción y después se mantuvieron sobre hielo durante la duración del procedimiento de tinción. Las células se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos a 4°C, después de lo cual se eliminó el sobrenadante. Después de la eliminación del sobrenadante, 1 μ L del anticuerpo ICAM-1 antihumano de ratón conjugado por APC se agregó por cada 100 μ L de tampón FACS. A continuación las células se incubaron sobre hielo en la oscuridad durante 30 minutos. Después de la incubación, se agregaron 150 μ L de tampón FACS y las células se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos a 4 °C, después de lo cual se eliminó el sobrenadante. Después de la eliminación del sobrenadante, se agregaron 200 μ L de tampón FACS y las células se suspendieron. Después de la suspensión, las células se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos a 4 °C. A continuación se eliminó el sobrenadante antes de volver a suspender las células en 150 μ L de tampón FACS.

55 La detección se realizó mediante el uso de un citómetro de flujo con sistema BD LSR I, comprado a BD Biosciences de San Jose, California. Se controlaron las células vivas para determinar la dispersión activa y se calculó la media

de ICAM-APC (software Becton-Dickinson CellQuest versión 3.3, Franklin Lakes, NJ). Se analizó el porcentaje de células vivas y la expresión de ICAM-1. Los ensayos para los compuestos de prueba se llevaron a cabo en paralelo con un compuesto de control de actividad conocida. La EC_{50} para el compuesto de control generalmente es de 40 a 100 nM. La IC_{50} calculada con base en los resultados de este ensayo se proporciona en la tabla 1.

| Compuesto | Ejemplo 3 | Ejemplo 4 | Ejemplo 5 | Ejemplo 6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| I | 0.056 | 0.181 | 11.338 | 0.565 |
| II | 9.655 | | | |
| III | 3.972 | | | |
| IV | 2.318 | 5.560 | | |
| V | 0.373 | | | 25.126 |
| VI | 0.104 | 0.262 | 4.973 | 0.424 |
| VII | 0.022 | 0.053 | | 0.140 |

5 Ejemplo 7

Formulaciones farmacéuticas

Este ejemplo describe las formulaciones farmacéuticas que contienen el compuesto I o II (que se entiende que también incluye sus sales). Dichas formulaciones se preparan en la forma conocida por los entendidos en la técnica y formulaciones adicionales resultarán evidentes para los entendidos en la técnica tras la consideración de este ejemplo y la divulgación adicional en la presente.

Tabla 2

| Formulación No. | Componentes de formulación |
|-----------------|---|
| 1 | Tampón de fosfato 50 mM a pH 7.4, Tween 80 al 0.05%, NaCl al 0.5% |
| 2 | Tampón fosfato 50 mM a pH 7.4, HPMC al 0.36%, glicerina al 0.2%, PEG-400 al 1%, NaCl al 0.35% |
| 3 | Tampón de fosfato 5 mM a pH 7.4, HPMC al 0.36%, glicerina al 0.2%, PEG-400 al 1%, Cremofor ELP al 5%, manitol al 4.3% |
| 4 | Tampón de citrato 10mM a pH 5.8, manitol al 4.2% |
| 5 | Tampón de citrato 10mM a pH 5.8, manitol al 4.2%, HPMC al 0.36%, glicerina al 0.2% |
| 6 | Tiloxapol al 0.3%, Carbopol974P al 0.5%, manitol al 2.25%, tampón de fosfato 50 mM a pH 6.5, 230mOsm/kg |
| 7 | Tiloxapol al 0.3%, Carbopol974P al 0.1%, manitol al 2.25%, tampón de fosfato 50 mM a pH 6.5, 230mOsm/kg |

Cada una de las formulaciones anteriores 1 a 7 se prepara con el compuesto I o II en tres concentraciones de dosis: 0.001%, 0.003% y 0.01% (p/p). Cada formulación se preparó mediante la adición de la cantidad especificada de un agente de tonicidad (manitol) a un matraz, con calentamiento hasta aproximadamente 50 °C en aproximadamente la mitad del volumen final del tampón especificado (fosfato o citrato). Después del calentamiento, la cantidad adecuada del compuesto I y II se agregó junto con los excipientes adicionales (glicerina y/o PEG400) según se indicó. Se agregó agua purificada en una cantidad suficiente. La mezcla se agitó hasta alcanzar la homogeneidad (aproximadamente 5 minutos) y después se filtró a través de una membrana de filtro esterilizadora y se colocó en un recipiente estéril. Si fuera necesario, el pH se ajustó mediante la adición de NaOH 1.0N.

Opcionalmente, las formulaciones que tienen una concentración mayor del compuesto I o II (por ejemplo, 0.03% p/p) pueden incluir un tensioactivo y opcionalmente un polímero estabilizador. Con referencia a las formulaciones 6 y 7, los tensioactivos preferidos incluyen Triton X114 y tiloxapol, que se encuentran disponibles comercialmente en Sigma-Aldrich (de St. Louis, MO) y Pressure Chemical Company (de Pittsburgh, PA), respectivamente. Los polímeros estabilizadores incluyen el carbómero Carbopol 974p (disponible comercialmente en Lubrizol, de Wickliffe, OH).

Las formulaciones 6 y 7 se prepararon mediante la dispersión del carbómero primero en el tampón que contenía tensioactivo a 10 veces de su concentración final (por ejemplo, tiloxapol al 3% en tampón de fosfato 50 mM a pH 6.5 con manitol al 2.5% y 5% Carbomer 974p). A continuación, el compuesto I o el compuesto II se dispersa en este concentrado previo también a 10 veces de su concentración final. La mezcla se homogeneizó y se obtuvo una formulación final mediante la dilución de 10 veces del concentrado previo filtrado en un tampón coincidente.

Los métodos para formular y probar los fármacos para la aplicación tópica se describen, por ejemplo, en Remington, The Science and Practice of Pharmacy (21va edición), páginas 872 a 882 (2006). El fármaco se formuló para la administración del fármaco en una profundidad deseada de la superficie de la piel mientras que se evita la absorción sistémica indeseada del fármaco. Pueden agregarse varios mejoradores de penetración a la composición como alcohol, alquil metil sulfóxido, pirrolidona, laurocapram, dimetil formamida, alcohol de tetrahidrofurfurilo, un anfífilico u

otros mejoradores varios como amida de ácido clofíbrico, hexametilen lauramida, enzimas proteolíticas, terpenos o sesquiterpenos. Los mejoradores de penetración mejoran la administración del fármaco a la piel.

En un ejemplo específico de la formulación, se utiliza un sistema 60:20:20 de etanol:propilenglicol:agua con suficiente propilenglicol para mantener de un 0.5 a un 2% del compuesto activo.

- 5 Los ingredientes comunes que pueden utilizarse para administrar el compuesto en una formulación tópica son los vehículos, por ejemplo, vehículos hidrófobos como hidrocarburos, petrolato líquido (aceite mineral, parafina líquida, aceite de parafina), petrolato blanco (vaselina), petrolato amarillo (vaselina), escualeno (perhidroescualeno, escualano), y siliconas; siliconas como polidimetilsiloxanos líquidos (dimeticona, aceite de silicona silástico de grado médico), alcoholes como alcoholes de laurilo (1-dodecanol, alcoholes de dodecilo), alcoholes de miristilo
- 10 (tetradecanol, alcoholes de tetradecilo), alcoholes de cetilo (hexadecanol, etal, alcoholes de palmitoil), alcoholes de estearilo (estenol, alcoholes cetosterilicos), alcoholes de oleilo (ocenol); esteroides como ésteres de esteroil; lanolina como lanolina acuosa, lanum; lanolina anhidra (como lanolina, lanolina anhidra, agnina); lanolinas semisintéticas; ácidos carboxílicos como ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido oléico; ésteres y poliésteres como ésteres de colesterol (estearato), monoésteres de etilenglicol, monoésteres de propilenglicol, monoésteres de glicerilo, monoestearato de glicerilo, sorbitol, monoésteres, monoésteres de sorbitán, diésteres de sorbitol,
- 15 poliésteres de sorbitán (Span, Arlacel), triestearato de glicerilo, manteca de cerdo, aceite de almendra, aceite de maíz, aceite de ricino, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de soja, aceites hidrogenados, aceites sulfatados, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, éteres y poliéteres como polietileno-polipropilenglicoles (Pluronic).
- 20 Los vehículos miscibles en agua que pueden utilizarse como cosolventes incluyen polioles y poliglicoles como propilenglicol (1,2-propanodiol), glicerina (glicerol), polietilenglicol líquido, polietilenglicol sólido (macrogol duro, carbocera), 1,2-fenol-hexanotriol, solución de sorbitol, ésteres y poliésteres como monoésteres de polioxietileno sorbitán (estearato- Tweens) y poliésteres de polioxietileno sorbitán (Tweens); éteres y poliéteres como monocetil éter de polietilenglicol (cetomacrogol 1000) y polietileno-polipropilenglicoles (Pluronic).
- 25 También pueden agregarse varios formadores de matriz estructural a la composición, por ejemplo, hidrocarburos como petrolato blanco (vaselina), petrolato amarillo (vaselina), parafina (cera de parafina, parafina dura), cera microcristalina, ceresina (cera mineral, ozocerita purificada); siliconas como sílice pirógena (cab-O-sil), bentonita (silicato de aluminio coloidal) y Veegum (silicato de magnesio y aluminio coloidal); polioles y poliglicoles como polietilenglicol sólido (macrogol duro, carbocera); alcoholes como alcoholes cetílicos (hexadecanol, etal, alcoholes palmíticos), alcoholes estearílicos (estenol, alcoholes cetosterilicos); esteroil y ésteres de esteroil como colesterol (colesterina), lanolina, lanolina anhidra y lanolina semisintética; ácidos carboxílicos como ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico; y ésteres o poliésteres como cera de abejas, cera de abejas blanca (cera de abejas blanqueada), cera Carnauba, miricina, ésteres de colesterol, ésteres (estearato), polioxietileno sorbitán, manteca de cerdo o aceites hidrogenados.
- 30 Las composiciones pueden incluir además agentes que inducen la suspensión, gelificación o viscosidad, por ejemplo, siliconas como sílice pirógena (cab-O-sil), bentonita (silicato de aluminio coloidal), o Veegum (silicato de magnesio y aluminio coloidal); policarboxilatos, polisulfatos o polisacáridos como agar, alginatos, carragenina, acacia, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietil celulosa, polímero de carboxi vinilo, gelatina, pectina, xantano, ácido poliacrílico.
- 35 Algunas realizaciones pueden incluir un emulsionante de agua en aceite como esteroil o éster de esteroil, por ejemplo, colesterol (colesterina), lanolina (lanolina acuosa, lanum), lanolina anhidra (como lanolina, lanolina anhidra, agnina); lanolinas semisintéticas; ácidos carboxílicos como Na⁺, K⁺, sales de etanolamina de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico o un éter o poliéter como polietileno-polipropilenglicoles (Pluronic). Si se desea un emulsionante de aceite en agua (o/p), los ejemplos son ésteres y poliésteres como monoésteres de polioxietileno sorbitán (estearato- Tweens), ésteres de polioxietileno (estearato y monoésteres de polietilenglicol, Myrj), poliésteres de polioxietileno sorbitán (Tweens); éteres y poliéteres como monocetil éter de polietilenglicol (cetomacrogol 1000) o polietileno-polipropilenglicoles (Pluronic) y otros como lauril sulfato de sodio, borax (borato de sodio), etanolamina o trietanolamina.
- 40 Los tensioactivos adecuados para su uso en la formulación incluyen, a modo no taxativo, tensioactivos no iónicos como tensioactivo 190 (copoliol de dimeticona), polisorbato 20 (Tween 20), polisorbato 40 (Tween 40), polisorbato 60 (Tween 60), polisorbato 80 (Tween 80), lauramida DEA, cocamida DEA y cocamida MEA, tensioactivos anfotéricos como oleil betaína y cocamidopropil betaína (Velvetex BK-35) y tensioactivos catiónicos como fosfolípido PTC (cloruro de cocamidopropil fosfatidil PG-dimonio). También pueden utilizarse las combinaciones o mezclas adecuadas de dichos tensioactivos.
- 45 Los humectantes adecuados para su uso en las formulaciones de la presente invención incluyen, a modo no taxativo, ácido láctico y otros ácidos hidroxil y sus sales, glicerina, propilenglicol, butilenglicol, PCA de sodio, carbocera 200, carbocera 400 y carbocera 800. Los emolientes adecuados para su uso en las formulaciones de la presente invención incluyen, a modo no taxativo, éter de estearilo PPG-15, alcohol de lanolina, lanolina, derivados de lanolina, colesterol, petrolato, isoestearil neopentanoato, octil estearato, aceite mineral, isocetil estearato, Ceraphyl 424

(miristil miristato), octil dodecanol, dimeticona (Dow Corning 200-100 cps), fenil trimeticona (Dow Corning 556), Dow Corning 1401 (ciclometicona y dimeticonol) y ciclometicona (Dow Corning 344) y Migliol 840 (fabricado por Huls; propilenglicol dicaprilato/dicaprato). Asimismo, las combinaciones y mezclas adecuadas de cualquiera de estos agentes humectantes y emolientes pueden utilizarse de conformidad con la presente invención.

5 La composición también puede incluir conservantes y antimicrobianos, como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, alcohol bencílico, bronopol, clorhexidina, clorocresol, imidazolidinil urea, ésteres de parabeno, fenol, fenoxietanol, sorbato de potasio o ácido sórbico; antioxidantes como α -tocoferol, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, ascorbato de sodio, metabisulfito de sodio; agentes quelantes como ácido cítrico o ácido edético; tampones como ácido cítrico y sales, ácido fosfórico y sales, H_3PO_4 / NaH_2PO_4 , glicina, ácido acético, trietanolamina o ácido bórico; humectantes como glicerina (glicerol), propilenglicol (E 1520), gliceril triacetato (E1518), sorbitol (E420), xilitol y malitol (E965), polidextrosa (E1200), quillaia (E999), ácido láctico, urea o cloruro de litio; y/o un antioxidante complejo como ácido cítrico y sus sales, ácido etilendiaminatetraacético (Versene, EDTA).

15 Una realización particular del tratamiento tópico puede ser un ungüento, que es una preparación semisólida pensada para la aplicación externa a la piel o a las membranas mucosas. En un ejemplo específico, el ungüento es a base de petrolato. El ungüento no contiene agua suficiente para separarlo en una segunda fase a temperatura ambiente. Los ungüentos solubles en agua pueden formularse con polietilenglicol. Los ungüentos son emolientes ideales con una buena penetración de la piel y adherencia a las superficies. El ungüento se encuentra en un recipiente adecuado como un tubo o frasco.

20 De forma alternativa, la forma de dosificación tópica es una crema en la que los compuestos se disuelven o suspenden en bases de agua o emolientes extraíbles. Las cremas pueden ser composiciones de agua en aceite o de aceite en agua. Los compuestos inmiscibles pueden combinarse mediante agitación mecánica o calor mediante el uso de métodos con goma húmeda, goma seca, frascos y vasos de precipitación. En algunas realizaciones, la crema es una emulsión de aceite en agua o una dispersión acuosa microcristalina de ácidos grasos de cadena larga o alcoholes que pueden lavarse con agua o más cosméticamente y estéticamente aceptables.

25 En otras realizaciones, los ingredientes activos se proporcionan para la administración en una pasta, que puede considerarse como un ungüento al cual se le agregó un alto porcentaje de sólidos insolubles, por ejemplo, tanto como un 50% en peso. La pasta es mucho más rígida que el ungüento debido a la presencia de sólidos, que forman una matriz particulada sobre la estructura de ungüento ya presente. Los ingredientes como el almidón, óxido de zinc, carbonato de calcio y talco se utilizan como la fase sólida. Las pastas proporcionan una barrera particularmente buena sobre la piel. Al igual que el ungüento, la pasta forma una película entera relativamente impermeable al agua sobre la superficie de la piel; a diferencia del ungüento la película es opaca y por consiguiente es un filtro solar eficaz. Por tanto, las pastas son particularmente eficaces para proteger la piel de la radiación ultravioleta que puede empeorar la afección que se está tratando (como DLE).

35 En otras realizaciones, el agente activo se proporciona en un gel, gelatina o loción. Los geles son sistemas semisólidos que consisten en dispersiones de moléculas pequeñas o grandes en un vehículo líquido acuoso similar a una gelatina mediante la adición de un agente gelificante. Entre los agentes gelificantes utilizados se encuentran las macromoléculas sintéticas como el carbómero 934 y derivados de celulosa como carboximetil celulosa o hidroxipropilmetil celulosa. Los geles son compatibles con muchas sustancias y pueden contener mejoradores de penetración para mejorar la administración a la piel. Los geles pueden ser geles de fase simple en los que las macromoléculas se distribuyen de forma uniforme a través del líquido sin límites aparentes entre las macromoléculas dispersadas y el líquido o geles de fase doble en los que la masa del gel consiste en flóculos de diferentes partículas pequeñas, a los que habitualmente se hace referencia como magmas. La gelatina contiene una base soluble en agua preparada a partir de gomas naturales como tragacanto, pectina, alginato o boroglicerina o a partir de derivados sintéticos de una sustancia natural como metilcelulosa o carboximetilcelulosa. La loción es una solución transparente que contiene de un 25 a un 50% de alcohol, que contiene opcionalmente un antiséptico o un emoliente. Otros ingredientes opcionales que pueden agregarse a la loción son un extracto de hamamelis, mentol, glicerina, ácido bórico, alumbre u oxiquinolina de potasio.

50 En otra realización, el compuesto se aplica en polvo, que contiene tamaños de partículas muy pequeños que producen una gran área de superficie por unidad en peso para cubrir una gran área de superficie del cuerpo y conferir dispersión de la luz. De forma alternativa, el compuesto se aplica en una solución, que es una preparación líquida de químicos solubles disueltos en solventes como agua, alcohol o propilenglicol. En otros ejemplos, se encuentra una emulsión, que es una preparación de dos fases en la que una fase (la fase dispersa o interna) se dispersa finamente en la otra (fase continua o externa). La fase dispersa puede tener una base hidrófoba (aceite en agua) o una base acuosa (agua en aceite). Debido a que existen dos fases incompatibles en estrecha relación, la emulsión generalmente contendría un sistema estabilizador físico, como un tensioactivo (iónico o no iónico), un polímero (polímeros no iónicos, polielectrolitos o biopolímeros) o sus mezclas.

60 Para las realizaciones donde el compuesto se proporciona en una suspensión, la forma de dosificación contiene dos fases. La fase continua o externa generalmente es un líquido o un semisólido mientras que la fase dispersa o interna se compone de materia particulada que es básicamente insoluble en la fase continua pero se dispersa a lo largo de

esta. La materia insoluble puede desearse para la acción fisiológica, por ejemplo, mediante un recubrimiento externo. A pesar de que el sistema de suspensión puede separarse en reposo, la velocidad de sedimentación puede disminuirse mediante la variación de la formulación para mantener una composición suficientemente homogénea durante al menos el período de tiempo necesario para administrar la dosis después de agitar su recipiente.

- 5 El compuesto también puede administrarse en un aerosol, que depende de la fuerza del gas comprimido o licuado para expulsar el contenido del recipiente. Los propelentes en el recipiente son responsables por el desarrollo de una presión adecuada dentro del recipiente y expulsan el producto cuando la válvula se encuentra abierta y ayudan en la atomización o producción de espuma de los productos. Los aerosoles farmacéuticos tópicos utilizan hidrocarburos (propano, butano y isobuteno) y gases comprimidos como nitrógeno, dióxido de carbono y óxido nitroso.
- 10 Cualquiera de estas formas de dosificación puede contener depósitos separados de los compuestos I/II y un agente auxiliar (como un agente para activar el compuesto II para formar el compuesto I).

Ejemplo 9

Modelo de ratón de lupus cutáneo

15 Este ejemplo describe el uso de modelos de ratón para analizar los tratamientos para el lupus cutáneo (como DLE), incluida la selección de los regímenes para el tratamiento, prevención y tratamientos de combinación. Los modelos animales se utilizan para probar los compuestos reivindicados, así como formulaciones de combinación, como las descritas en la presente. En ejemplos particulares, las formulaciones tópicas que contienen los compuestos I y/o II se aplican a la piel del animal y se evalúa la respuesta terapéutica. Después que las formulaciones se administran al animal, la piel se examina para buscar pruebas de la disminución de la cantidad o la seriedad de las lesiones cutáneas.

20 A pesar de que no se encontró ningún modelo animal que imite de forma ideal el DLE, la cepa de ratón MRL/lpr fue beneficiosa como herramienta de investigación. Las formas transgénicas o inhibidas de estos ratones autoinmunes se utilizaron para explorar las manifestaciones del lupus cutáneo. En el ratón MRL/lpr, la mutación de lpr resulta en una alternación en el gen Fes y en un defecto de la apoptosis que resulta en la proliferación anormal de linfocitos con función anormal y producción automática de anticuerpos. Estos animales desarrollan lesiones en la piel similares al lupus espontáneas que son comunes en los primeros años de vida y se vuelven progresivamente más serias a medida que los ratones envejecen. Ghoreishi y Dutz, *Lupus* 19:1029-1035 (2010).

25 Un modelo de ratón alternativo es el ratón TCR α -/- que se trató con fluorouracilo e irradiación de luz ultravioleta B para inducir las lesiones de lupus cutáneo. Furukawa y Yoshimasu, *Autoimmunity Reviews* 4:345-350 (2005).

30 No obstante, el modelo de ratón preferido actualmente para demostrar y probar la eficacia de los tratamientos divulgados actualmente es el modelo de ratón (NZBxNZW) F_1 propenso a contraer lupus, como se divulga en Guiducci et al., *Journal of Experimental Medicine* 207:2931-2942 (2010). Estos ratones propensos a contraer lupus desarrollan lesiones cutáneas crónicas que se parecen al lupus eritematoso crónico humano después de extraer la cinta.

35 Los ratones (NZBxNZW) F_1 propensos a contraer lupus se encuentran disponibles en The Jackson Laboratory y pueden utilizarse a las 18 a 22 semanas de edad. Los ratones C57BL/6 y 129 se encuentran disponibles como controles (por ejemplo, en Charles River). Las áreas dorsales de los ratones se afeitan en un área de 3x3 cm y la extracción de la cinta se realiza con 10 trazos de cinta adhesiva de tela. La piel mostrará un aumento en la cantidad de PDC y neutrófilos y el infiltrado celular abundante se ve acompañado por un aumento en la expresión de los genes regulados por IFN y proinflamatorios. Aproximadamente tres semanas después de la extracción de la cinta los ratones presentan hiperplasia epidérmica prominente con hiperqueratosis, cráteres o quistes rellenos de queratina, fibroesclerosis dérmica y cambios degenerativos de la grasa subcutánea. Estos cambios son similares a los observados en humanos que presentan lupus eritematoso crónico.

45 En el modelo, el ratón se expone al agente de prueba, mediante el uso de diferentes vías, dosis y regímenes de administración. En ejemplos particulares, los fármacos divulgados en la presente se aplican tópicamente a las áreas en las que se quitó o se quitará la cinta. De forma alternativa, el fármaco de prueba se administra sistémicamente. El fármaco se administra una o más veces en intervalos fijos antes o después de la extracción de la cinta (por ejemplo, diariamente después de la extracción de la cinta o después de la aparición de las lesiones cutáneas). La respuesta al fármaco puede evaluarse a través de la medición de los indicios de la enfermedad como la cantidad, el área de superficie o la aparición de lesiones cutáneas. Incluso si la cantidad o el área de superficie de las lesiones no se reduce, la seriedad de las lesiones (como niveles de eritema) puede medirse con la evaluación de la respuesta a los tratamientos de prueba. También se realizan análisis histológicos de las muestras de piel y se clasifican de 1 a 3 con base en los siguientes criterios: (a) espesor de la epidermis; (b) grado de ulceración; (c) inflamación intraepitelial; (d) inflamación dérmica; y (e) inflamación de panículo. La clasificación histológica se realiza de la siguiente forma: 0, arquitectura de la piel normal; pocos leucocitos dérmicos y anexos regulares; 1: inflamación leve, hiperplasia epidérmica ligera y signos de proliferación dérmica de fibroblastos; 2: inflamación moderada, hiperplasia epidérmica perceptible (aumento de dos a cuatro veces en el espesor epitelial) con hiperqueratosis, infiltración dérmica de granulocitos de leucocitos/neutrófilos significativa con algunos macrófagos, fibroesclerosis de la dermis moderada,

reducción en la cantidad de anexos y cambios degenerativos ligeros del tejido adiposo hipodérmico; y 3: inflamación seria, hiperplasia epidérmica marcada (aumento mayor a cuatro veces en el espesor epitelial) con hiperqueratosis, formación de cráteres y quistes rellenos de queratina, discontinuidad difusa de la capa epidérmica (ulceración), infiltrado dérmico extenso con abundantes neutrófilos y macrófagos, fibroesclerosis dérmica pronunciada, desaparición de anexos y cambios degenerativos evidentes del tejido adiposo hipodérmico. Los diferentes parámetros se clasifican y suman para obtener un valor de la enfermedad total. Los infiltrados celulares pueden procesarse con el uso de citometría de flujo.

Ejemplo 10

Métodos de tratamiento y formulaciones de combinación

Los individuos para ser tratados con las formulaciones reivindicadas se seleccionan con base en la presentación clínica de lupus eritematoso cutáneo, como DLE, ACLE, SCLE o DILE. Este ejemplo se dirige específicamente al tratamiento de DLE, pero puede utilizarse un método similar de tratamiento para otras formas cutáneas de lupus, como ACLE, SCLE o DILE. Las composiciones reivindicadas generalmente se aplican tópicamente a las lesiones de DLE en la piel, por ejemplo, únicamente a las lesiones de DLE en la piel, aunque también pueden aplicarse de forma más general a la piel o administrarse sistémicamente. El tratamiento puede continuarse durante al menos una semana, un mes o un año y en algunos individuos el tratamiento puede extenderse a varios años, la duración de la enfermedad o el tiempo de vida del individuo.

En casos particulares, los individuos se seleccionan para un tratamiento concomitante con otras intervenciones farmacéuticas o no farmacéuticas, como PLAQUENIL sistémico o corticosteroides tópicos. En otros casos, los compuestos I y/o II se administran sin ningún otro tratamiento para LE o DLE, como PLAQUENIL sistémico o corticosteroides sistémicos o tópicos. En otras realizaciones, el método incluye administrar el tratamiento a un individuo que presente DLE que no tenga anticuerpos anti-ADN, por ejemplo, anticuerpos anti-ADN de cadena doble.

El individuo se selecciona mediante la realización del diagnóstico de lupus eritematoso cutáneo, por ejemplo, lupus eritematoso cutáneo crónico, como DLE. En este ejemplo particular, se selecciona el individuo que no presente SLE (por ejemplo, que no presente anticuerpos anti-ADN de cadena doble o manifestaciones sistémicas de SLE como la inflamación de los riñones, pulmones, sistema nervioso central o cualquier órgano diferente a la piel o a las membranas mucosas de los ojos, nariz o boca). En otros ejemplos, el individuo únicamente presenta manifestaciones cutáneas de la enfermedad en la superficie del cuerpo y no presenta lesiones en cualquier otro órgano del cuerpo. Se proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto en una formulación de gelatina de petrolato tópica y la formulación se aplica directamente a las lesiones de lupus eritematoso cutáneo, como pápulas escamosas en las superficies del tronco y de extensión de las extremidades y/o el cuero cabelludo. La formulación farmacéutica se aplica a las lesiones diariamente, por ejemplo, de 2 a 4 veces por día durante más de un día, por ejemplo, al menos una semana. La aplicación tópica de la formulación a las lesiones continúa hasta que las lesiones en las que se aplica la formulación retroceden o desaparecen o se retrasa o detiene su evolución.

En otros ejemplos, el compuesto terapéutico se proporciona en una cantidad eficaz en una formulación de filtro solar y se aplica a la piel antes de la exposición a la radiación ultravioleta, para protegerla de la exposición a la radiación ultravioleta que a menudo es un disparador de la erupción de lesiones de lupus cutáneo. La formulación de filtro solar puede contener, por ejemplo, una cantidad eficaz de PABA u óxido de zinc para minimizar la exposición de la piel a la radiación ultravioleta.

También se proporcionan terapias de combinación que combinan los compuestos de fórmula I y/o II (incluidas sus sales) con otro agente que trata el lupus cutáneo u otra afección, como una afección asociada a los ojos secos. Las formulaciones de combinación para el tratamiento del lupus cutáneo (como DLE) incluyen formulaciones de combinación que incluyen un corticosteroide tópico, como un corticosteroide del grupo I, II, III, IV, V, VI o VII, por ejemplo, cualquiera de los siguientes:

Grupo I (muy eficaz: hasta 600 veces más fuerte que la hidrocortisona)

- Propionato de clobetasol al 0.05% (Dermovate)
- Dipropionato de betametasona al 0.25% (Diprolene)
- Propionato de halobetasol al 0.05% (Ultravate)
- Diacetato de diflorasona al 0.05% (Psorcon)

Grupo II

- Fluocinonida al 0.05% (Lidex)
- Halcinonida al 0.05% (Halog)

- Amcinonida al 0.05% (Cyclocort)
- Desoximetasona al 0.25% (Topicort)

Grupo III

- Acetonida de triamcinolona al 0.5% (Kenalog, crema Aristocort)
- 5 • Fluorato de mometasona al 0.1% (ungüento Elocon)
- Propionato de fluticasona al 0.005% (Cutivate)
- Dipropionato de betametasona al 0.05% (Diprosone)

Grupo IV

- Acetonida de fluocinolona al 0.01 a 0.2% (Synalar, Synemol, Fluonid)
- 10 • Valerato de hidrocortisona al 0.2% (Westcort)
- Butirato de hidrocortisona al 0.1% (Locoid)
- Flurandrenolida al 0.05% (Cordran)
- Acetonida de triamcinolona al 0.1% (Kenalog, ungüento Aristocort A)
- Fluorato de mometasona al 0.1% (crema, loción Elocon)

15 **Grupo V**

- Acetonida de triamcinolona al 0.1% (Kenalog, crema, loción Aristocort)
- Propionato de fluticasona al 0.05% (crema Cutivate)
- Desonida al 0.05% (Tridesilon, ungüento DesOwen)
- Acetonida de fluocinolona al 0.025% (Synalar, crema Synemol)
- 20 • Valerato de hidrocortisona al 0.2% (crema Westcort)

Grupo VI

- Prednicarbato al 0.05% (crema, ungüento, Acloivate)
- Acetonida de triamcinolona al 0.025% (crema Aristocort A, loción Kenalog)
- Acetonida de fluocinolona al 0.01% (shampoo Capex, Dermasmooth)
- 25 • Desonida al 0.05% (crema, loción DesOwen)

Grupo VII

- Hidrocortisona al 2.5% (crema, loción, ungüento Hytone)
- Hidrocortisona al 1% (muchas marcas vendidas al consumidor sin receta médica)

30 En algunos ejemplos, al individuo se le diagnosticó un trastorno además de lupus cutáneo, donde el trastorno adicional no es causado por el lupus eritematoso, no es una manifestación ni se encuentra asociado con el lupus eritematoso. Por ejemplo, a un individuo que presenta lesiones de lupus cutáneo en los párpados también se le puede diagnosticar ojos secos por lo que se le administra una terapia de combinación al individuo. En un ejemplo, se descubre que el individuo presenta una meibomitis que respondería a la aplicación tópica de corticosteroides, como una suspensión oftálmica de acetato de prednisolona al 1%. Los compuestos de fórmula I y/o II (incluidas sus sales)

35 se suspenden en la formulación de prednisolona y se instilan o aplican en el ojo de 2 a 4 veces al día. En otros ejemplos, si los ojos secos se asocian con alergias estacionales u otras afecciones inflamatorias, las gotas oftálmicas se administran con o en una formulación que incluye antihistaminas (como feniramina, emedastina o azelastina), anticongestivos (como clorhidrato de tetrahidrozolina o nafazolina) o un agente antiinflamatorio no esteroideo (como nepafenac o quetorolac), corticosteroides (como fluorometolona o loteprednol), estabilizadores de mastocitos (como azelastina, cromal, emedastina, ketotifeno, lodoxamina, nedocromil, olopatadina o pemirolast). Si

40 los ojos secos se asocian con una afección bacteriana infecciosa (como infección de la glándula meibomiana o infección de la córnea) las gotas oftálmicas se administran con o en una formulación de combinación que puede

contener antibióticos adecuados (como ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, ofloxacina, sulfacetamina, tobramicina o monofloxacina). Si los ojos secos se asocian con una infección viral, las gotas oftálmicas se administran con o en una formulación de combinación con un agente antiviral como trifluridina o idoxuridina.

5 Otro ejemplo de la terapia de combinación es un individuo al que se le diagnosticó lesiones de lupus cutáneo en el rostro y/o rosácea ocular después de presentar ojos irritados y eritema facial con telangiectasia. El individuo se trata con gotas oftálmicas que contienen los compuestos de fórmula I y/o II o una formulación tópica que se aplica al rostro y el individuo también se trata con un antibiótico oral, como antibiótico de tetraciclina, como minociclina. De forma alternativa, la composición tópica para tratar el LE cutáneo, como un gel para tratar DLE, también contiene un agente tópico para tratar la rosácea, como gel de metronidazol.

10 En otro ejemplo, el individuo presenta lupus cutáneo y otro trastorno autoinmune preexistente y se trata con la formulación tópica que contiene los compuestos de fórmula I y/o II. El individuo también se trata con terapia sistémica (por ejemplo) oral con corticosteroides como una dosis reducida de prednisolona.

Ejemplo 11

Aplicadores tópicos y formas de dosificación

15 Las composiciones de la invención pueden utilizarse en un dispositivo de aplicación que permite la aplicación de la composición al sitio diana en la piel sin aplicar la composición a las áreas de la piel que no comprenden el sitio diana. Por ejemplo, puede emplearse un dispositivo que permita que la composición se aplique sin una primera aplicación de la composición a los dedos de la persona. Los dispositivos adecuados incluyen espátulas, jeringas sin agujas y parches adhesivos. Con el uso de espátulas o paños o similares puede que sea necesario que el dispositivo se inserte en un recipiente que contenga la composición. El uso de jeringas o parches adhesivos puede realizarse mediante el llenado de la jeringa o parche con la composición. A continuación la composición puede esparcirse tópicamente con las espátulas o paños o puede expulsarse de las jeringas en dirección a la piel de la persona.

25 En una realización de la invención, la composición que contiene el compuesto y el agente mejorador se proporciona en un parche adhesivo. Algunos ejemplos de parches adhesivos son bien conocidos. Por ejemplo, véase las patentes de Estados Unidos No. Des. 296,006; 6,010,715; 5,591,767; 5,008,110; 5,683,712; 5,948,433; y 5,965,154. Dichos parches generalmente tienen una capa adhesiva que se aplica a la piel de la persona, un depósito o reserva para retener el agente farmacéutico y una superficie externa que evita el escape del producto farmacéutico del depósito. La superficie externa del parche generalmente es no adhesiva.

30 De conformidad con la presente invención, el compuesto para tratar el lupus cutáneo se incorpora en el parche de forma tal que el compuesto permanece estable durante períodos de tiempo prolongados. El compuesto puede incorporarse en una matriz polimérica que lo estabiliza y permite que el compuesto se esparza fuera de la matriz y el parche. El compuesto también puede incorporarse en la capa adhesiva del parche de forma tal que una vez que el parche se aplica a la piel el compuesto puede esparcirse en la piel o incluso sobre la piel. De conformidad con una realización, el adhesivo, preferentemente comprende un agente mejorador como se divulga en la presente. En una realización, la capa adhesiva puede activarse con calor por lo que las temperaturas de aproximadamente 37 grados Celsius hacen que el adhesivo se licue lentamente de forma tal que el compuesto se esparza fuera del parche y a través de la piel. El adhesivo puede permanecer pegajoso cuando se almacena a menos de 37 grados Celsius y una vez que se aplica a la piel el adhesivo pierde su pegajosidad a medida que se licua. La administración del compuesto se completa una vez que el parche ya no se adhiere a la piel.

40 De forma alternativa, el compuesto puede proporcionarse en uno o más pocillos o cavidades dispuestas cerca de la superficie del parche que entrará en contacto con la piel. En una realización, el compuesto se almacena en los pocillos en un estado seco o liofilizado. El almacenamiento de dichos parches en una atmósfera fría (por ejemplo, de aproximadamente 4 grados Celsius) mantiene la estabilidad del compuesto. El parche puede extraerse de la atmósfera fría cuando fuera necesario y aplicarse a la piel de la persona donde el compuesto puede solubilizarse tras la mezcla con un líquido como agua o salmuera. El líquido puede proporcionarse separadamente o como un componente del parche. Por ejemplo, el líquido puede proporcionarse en la piel de la persona de forma tal que cuando el parche que contiene el compuesto seco interactúa con el líquido, el compuesto se expone al líquido y se solubiliza. El compuesto solubilizado después puede absorberse por la piel. Como otro ejemplo, el parche puede contener uno o más pocillos o cavidades para mantener el líquido en el parche. El líquido puede extraerse de los pocillos o las cavidades para hacer que el líquido se mezcle con el compuesto seco. Por ejemplo, el líquido puede proporcionarse en una cavidad en el parche y en algunas realizaciones contiene un agente para mejorar o activar el compuesto. La presión ejercida sobre el parche hace que la cavidad se quiebre y libere el líquido de forma tal que se mezcle con el compuesto seco. Por tanto, la composición que contiene el compuesto puede esparcirse fuera del parche. En otro ejemplo, un líquido como un gel o crema que contiene agua puede aplicarse a la piel en el sitio diana. El parche que contiene el compuesto seco a continuación se aplica a la piel donde el líquido se mezcla con el compuesto y la composición se mueve fuera del parche y hacia la piel.

En los parches que contienen pocillos con el compuesto seco, los pocillos se sellan de forma tal que el compuesto permanece en los pocillos hasta que se administra el compuesto. Por consiguiente, los pocillos se sellan con una

- membrana o película que evita que el compuesto se esparza de los pocillos en el estado seco del compuesto, pero que permite que el compuesto se esparza de los pocillos cuando se encuentra solubilizado. La membrana puede ser porosa o no porosa. En una realización, la membrana comprende celulosa o almidón y más particularmente, la membrana puede contener alcohol de polivinilo, óxido de polietileno e hidroxipropil metil celulosa. La membrana es delgada (con un espesor que varía de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 1 mm) y se disuelve al entrar en contacto con el líquido. Por tanto, el gel o crema colocada en la piel de la persona o el líquido dirigido desde una cavidad en el parche puede entrar en contacto con la membrana de celulosa y hacer que la membrana se disuelva. Después de la disolución del líquido, este se mezcla con el compuesto seco y solubiliza el compuesto. La composición a continuación se esparce fuera del parche y en la piel del individuo.
- Asimismo, el parche transdérmico puede incluir una pluralidad de pequeñas agujas que se extienden a través de la capa córnea, pero no se extiende hacia la dermis para romper los vasos sanguíneos. Las agujas pueden tener una longitud de 20 μm a 1 mm cuando se extienden desde la superficie dérmica del parche. Por tanto, las agujas se extienden a través de la capa córnea, pero se detienen en la dermis donde se encuentran ubicados los lechos capilares. Las agujas pueden ser sólidas o huecas. Las agujas huecas pueden tener un lumen que se extiende a lo largo de su longitud de forma tal que la composición pueda pasar desde el depósito en el parche hasta el extremo de la aguja en la epidermis. Las agujas sólidas pueden utilizarse para permitir que la composición se esparza a lo largo de la superficie externa de la aguja hacia la epidermis.

En el uso, el aplicador tópico se aplica de forma adhesiva a un área diana de la piel que presenta una o más lesiones de lupus cutáneo y el aplicador se deja en su lugar hasta que el compuesto en el parche se administra a la lesión cutánea. El aplicador tópico (como un parche) proporciona una liberación sostenida del fármaco durante un período de tiempo prolongado, como varias horas o incluso al menos un día o más.

Ejemplo 12

Otras formas de dosificación y aditivos

La formulación tópica puede prepararse en una variedad de formas. Los sólidos generalmente son firmes y no pueden verterse y comúnmente se formulan como una barra o bastón o en la forma particulada; los sólidos pueden ser opacos o transparentes y pueden contener opcionalmente solventes (incluida el agua y el alcohol), emulsionantes, humectantes, emolientes, fragancias, tintes/colorantes, conservantes e ingredientes activos. Las cremas y lociones habitualmente son similares entre sí, difieren principalmente en su viscosidad (las cremas generalmente son más espesas y más viscosas que las lociones); las lociones y las cremas pueden ser opacas, translúcidas o transparentes y habitualmente contienen emulsionantes, solventes (incluida el agua y el alcohol) y agentes que ajustan la viscosidad. Las lociones y las cremas también pueden contener opcionalmente humectantes y emolientes (especialmente en el caso de productos para el cuidado de la piel) así como fragancias, tintes/colorantes, conservantes e ingredientes activos. Los geles/sueros pueden prepararse con una variedad de viscosidades, desde espesa (viscosidad alta) a delgada (viscosidad baja) y difieren principalmente de las lociones y cremas en que los geles/sueros generalmente son transparentes en lugar de opacos. Al igual que las lociones y las cremas, los geles/sueros habitualmente contienen emulsionantes, solventes (incluida el agua y el alcohol) y agentes de ajuste de la viscosidad y también pueden contener humectantes y emolientes, fragancias, tintes/colorantes, conservantes e ingredientes activos. Los líquidos acuosos son más delgados que las cremas, lociones o geles y generalmente son transparentes; los líquidos generalmente no contienen emulsionantes. Los productos tópicos líquidos habitualmente contienen otros solventes además del agua (incluido el alcohol) y también pueden contener agentes de ajuste de la viscosidad, humectantes y emolientes, fragancias, tintes/colorantes/pigmentos, conservantes e ingredientes activos.

Los emulsionantes adecuados para su uso en las formulaciones incluyen, a modo no taxativo, Incroquat Behenyl TMS (metosulfato de behenitrmonio, alcohol de cetearilo), emulsionantes no iónicos como polioxi-etileno oleil éter, estearato de PEG-40, cetarete-12 (por ejemplo, Eumulgin B-1 fabricada por Henkel), cetarete-20 (por ejemplo, Eumulgin B-2 fabricada por Henkel), cetarete-30, Lanette O (fabricado por Henkel; alcohol de cetarete), estearato de glicerilo (por ejemplo, Cutina GMS fabricada por Henkel), estearato de PEG-100, Arlacel 165 (estearato de glicerilo y estearato de PEG-100), stearet-2 y stearet-20 o sus combinaciones/ mezclas, así como emulsionantes catiónicos como estearamidopropil dimetilamina y metosulfato de behenitrmonio o sus combinaciones/mezclas. Además, los emulsionantes catiónicos preferentemente se combinan o mezclan con emulsionantes no iónicos para formar productos de emulsión estables que contienen altas concentraciones de sales de estronio.

Los ingredientes activos secundarios para su uso en las formulaciones incluyen, a modo no taxativo, ácidos hidroxil alfa, filtros solares, antitranspirantes, fármacos anti acné, vitaminas (especialmente vitaminas A y C) y minerales y varios medicamentos vendidos con prescripción o vendidos sin receta. Las composiciones divulgadas en la presente pueden tener múltiples ingredientes activos dentro de la misma formulación tópica y pueden utilizarse combinaciones de ingredientes activos como las enumeradas anteriormente, según sea adecuado para la afección o afecciones tratadas.

Las fragancias y colores adecuados como rojo FD&C No. 40 y amarillo FD&C No. 5, pueden utilizarse en las formulaciones de la presente invención. Otros ejemplos de fragancias y colores adecuados para su uso en los productos tópicos son conocidos en la técnica.

5 Otros ingredientes adicionales y auxiliares adecuados que pueden incluirse en las formulaciones incluyen, a modo no taxativo, abrasivos, absorbentes, agentes antipelmazantes, agentes antiespumantes, agentes antiestáticos, astringentes (por ejemplo, hamamalis, alcohol y extractos herbales como extracto de manzanilla), aglutinantes/excipientes, agentes de tamponación, agentes quelantes (por ejemplo, Versene EDTA), agentes formadores de película, agentes acondicionadores, agentes opacificantes, ajustadores de pH (por ejemplo, ácido cítrico e hidróxido de sodio) y protectores. Los ejemplos de cada uno de estos ingredientes, así como los ejemplos de otros ingredientes adecuados en las formulaciones tópicas del producto pueden encontrarse en las publicaciones de la asociación de cosmética, tocador y perfumería (CFTA). Véase, por ejemplo, el manual de ingredientes cosméticos de la CTFA, 2da edición de John A. Wenninger y G. N. McEwen, Jr. (CTFA, 1992).

15 Asimismo, una variedad de tipos de productos, incluidos los cosméticos, pueden formularse en cada una de las formas descritas anteriormente (es decir, sólidos, cremas, lociones, geles y líquidos). Por ejemplo, pueden formularse limpiadores (para el rostro y el cuerpo), shampoos/acondicionadores, tratamientos/tintes/permanentes/alisadores del cabello, antitranspirantes/desodorantes, productos de maquillaje y otros productos faciales, para las manos y corporales en cualquiera de las cinco formas principales del producto: sólidos, cremas, lociones, geles o líquidos. Los productos en forma sólida comunes incluyen cosméticos como lápices de labios, rubores y coloretes, productos de maquillaje, barras antitranspirantes y desodorantes y limpiadores como jabón en barra y detergentes en polvo. Otros ejemplos de productos en forma sólida incluyen grageas y supositorios para el tratamiento de lesiones de lupus cutáneo de las membranas mucosas (como la boca o el ano). Los productos en forma de crema y loción comunes incluyen productos de ácido hidroxil alfa (AHA), productos humectantes y filtros solares, shampoos/acondicionadores y otros productos para el cuidado del cabello y cosméticos como anteojeras y bases. Los productos en gel comunes incluyen geles de afeitado y lociones para después del afeitado. Los productos en forma líquida comunes incluyen soluciones antiacné, lociones para después del afeitado, gárgaras/elíxires bucales y tonificantes/tónicos y acondicionadores de la piel.

30 Otras metodologías y materiales para la preparación de formulaciones en una variedad de formas también se describen en Anthony L. L. Hunting (ed.), "A Formulary of Cosmetic Preparations (Vol. 2)--Creams, Lotions and Milks," Micelle Press (Inglaterra, N.J. 1993). Véase, por ejemplo, el capítulo 7, páginas 5 a 14 (aceites y geles); capítulo 8, páginas 15 a 98 (bases y emulsiones); capítulo 9, páginas 101 a 120 (productos para todos los usos); capítulo 10, páginas 121 a 184 (máscaras limpiadoras, cremas, lociones); capítulo 11, páginas 185 a 208 (bases, cremas de día); capítulo 12, páginas 209 a 254 (emolientes); capítulo 13, páginas 297 a 324 (productos de tratamiento facial); capítulo 14, páginas 325 a 380 (productos para las manos); capítulo 15, páginas 381 a 460 (cremas y lociones corporales y cutáneas) y capítulo 16, páginas 461 a 484 (productos para bebés).

35 **Ejemplo 13**

Una formulación tópica ejemplar

La formulación tópica puede prepararse en una variedad de intensidades y mediante el uso de una variedad de concentraciones de excipientes como se describe en la presente. La tabla 2 es una lista de los excipientes utilizados en este ejemplo y sin restringirse con ninguna consideración tópica particular, la función de cada excipiente.

40 **Tabla 3**

| Lista de excipientes y sus funciones | |
|--------------------------------------|--------------------------|
| Excipiente | Función |
| PEG400, Glycófurol | Solvente |
| PEG8000, PEG4500, PEG3350 | Base tópica |
| Tefose® 63, Span®, Myrj®, TPGS | Tensioactivo |
| DMI, PG | Mejorador de penetración |
| H2O | Emoliente |
| BHT | Antioxidante |
| Caramel | Aditivo de color |

Con referencia a la tabla 3, el PEG400 empleado en los ejemplos de trabajo fue polietilenglicol 400 super refinado, disponible comercialmente en Croda Inc., Edison NJ. Del mismo modo, el dimetil isosorbida super refinado (DMI), también disponible en Croda Inc. se utilizó típicamente en estos ejemplos.

45 Para preparar las formulaciones, los excipientes y el compuesto I se agregaron a un recipiente de vidrio y se calentaron y/o sonicaron a 65°C a 70°C para disolver el API completamente. A continuación la muestra se enfrió a

ES 2 686 532 T3

temperatura ambiente. Los ingredientes para las dos formulaciones ejemplares se prepararon mediante este método como se expresa a continuación en las tablas 4 y 5.

Tabla 4

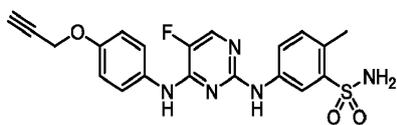
| Componente | Grado | % en peso | Peso (g) por kg |
|-------------------------------------|--------------|------------------|------------------------|
| Compuesto I | GMP | 3.0 | 30 |
| Polietilenglicol super refinado 400 | NF | 39.95 | 399.5 |
| Polietilenglicol 4500 | NF | 32.0 | 320 |
| Hidroxitolueno butilado, granular | NF | 1.0 | 10 |
| MYRJ S100-PA-SG | -- | 5.0 | 50 |
| Dimetil isosorbida super refinado | -- | 15.0 | 150 |
| Agua purificada | USP | 4.0 | 40 |
| Caramelo | NF | 0.05 | 0.5 |
| | Total | 100 | 1000 |

Tabla 5

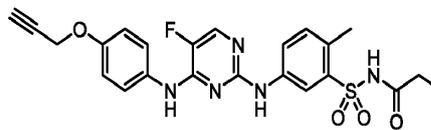
| Componente | Grado | % en peso | Peso (g) por kg |
|-------------------------------------|--------------|------------------|------------------------|
| Compuesto I | GMP | 6.0 | 60 |
| Polietilenglicol super refinado 400 | NF | 33.95 | 339.5 |
| Polietilenglicol 4500 | NF | 35.0 | 350 |
| Hidroxitolueno butilado, granular | NF | 1.0 | 10 |
| MYRJ S100-PA-SG | -- | 5.0 | 50 |
| Dimetil isosorbida super refinado | -- | 15.0 | 150 |
| Agua purificada | USP | 4.0 | 40 |
| Caramelo | NF | 0.05 | 0.5 |
| | Total | 100 | 1000 |

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I y/o II, o una de sus formas de sales farmacéuticamente aceptables



I



II

- 5 para su uso en un método de tratamiento de lupus eritematoso discoide, donde el método comprende administrar una cantidad eficaz de dicho compuesto de fórmula I y/o II, o una de sus formas de sales farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que presenta lupus eritematoso discoide pero que no presenta lupus eritematoso sistémico.
2. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, donde el compuesto de fórmula I y/o II, o una de sus formas de sales farmacéuticamente aceptables, se administra tópicamente.
- 10 3. El compuesto para su uso de la reivindicación 2, donde el individuo presenta lesiones de lupus discoide y el compuesto se aplica tópicamente a las lesiones de lupus discoide.
4. El compuesto para su uso de la reivindicación 3, donde el lupus eritematoso discoide es lupus eritematoso discoide en niños, lupus eritematoso discoide generalizado o lupus eritematoso discoide localizado.
5. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, donde la forma de sal farmacéuticamente aceptable es una sal del compuesto II.
- 15 6. El compuesto para su uso de la reivindicación 5, donde la sal del compuesto II se selecciona de entre sal de sodio, sal de potasio, sal de calcio, sal de arginina y sal de colina.
7. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, donde el compuesto de fórmula I y/o II o su forma de sal farmacéuticamente aceptable se administra en combinación o conjuntamente con un antiinflamatorio, una antihistamina, un antibiótico o un medicamento antiviral.
- 20 8. El compuesto para su uso de la reivindicación 1, donde el individuo no presenta anticuerpos anti ADN.
9. El compuesto para su uso de la reivindicación 8, donde el individuo no presenta anticuerpos anti-ADN de cadena doble.
- 25 10. Una formulación que comprende el compuesto I y/o el compuesto II tal como se define en la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso en un método de tratamiento de lupus eritematoso discoide, donde el método comprende administrar tópicamente una cantidad eficaz de dicha formulación a un individuo que presenta lupus eritematoso discoide pero que no presenta lupus eritematoso sistémico y donde la formulación es una forma de dosificación tópica.
11. La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde la forma de dosificación tópica comprende una solución, un gel, un ungüento, una crema, una suspensión o un aplicador adhesivo.
- 30 12. Una formulación tal como se define en la reivindicación 10 u 11, para su uso en un método tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 o 7.
13. Un kit que comprende una formulación farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, donde la formulación farmacéutica se administra a la piel.

FIG. 1

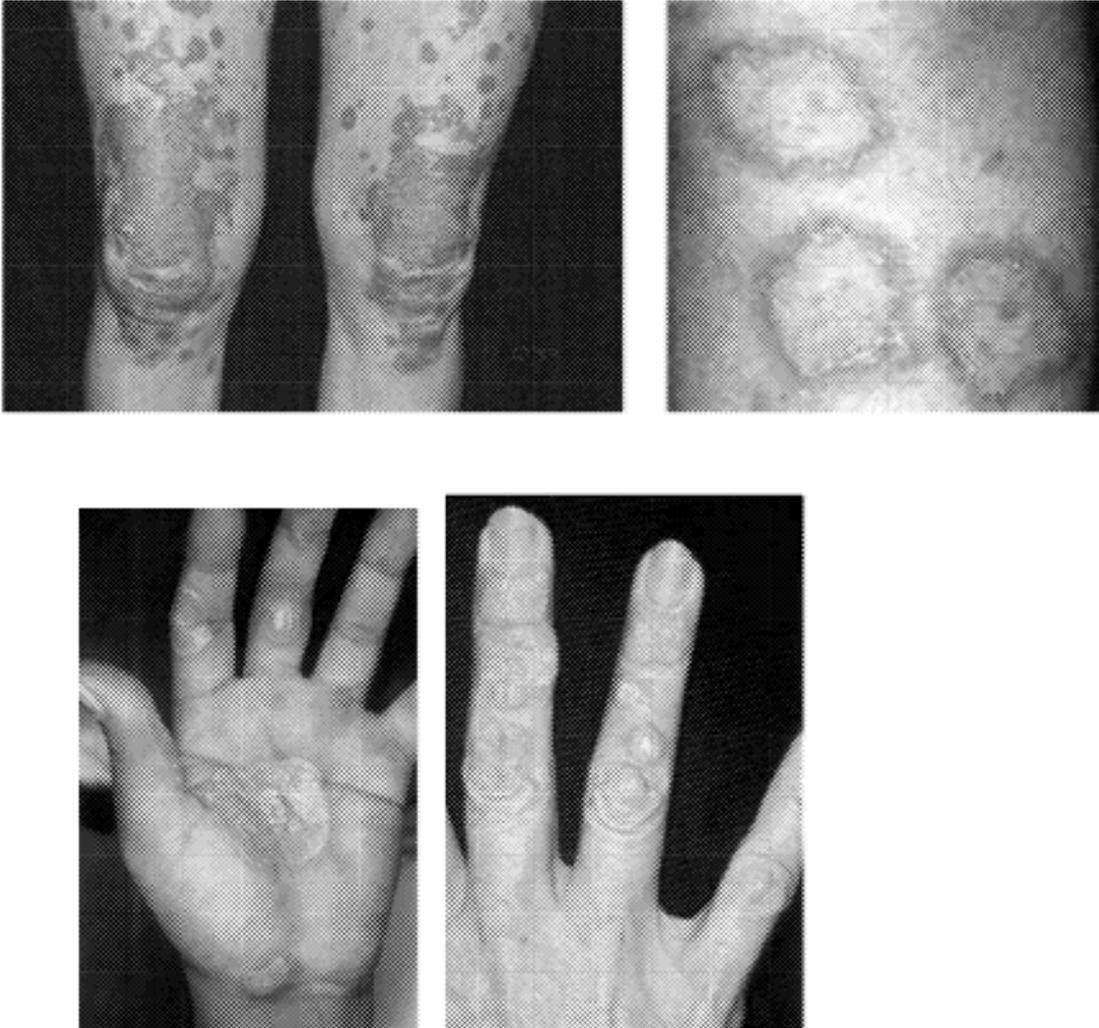


FIG. 2



FIG. 3

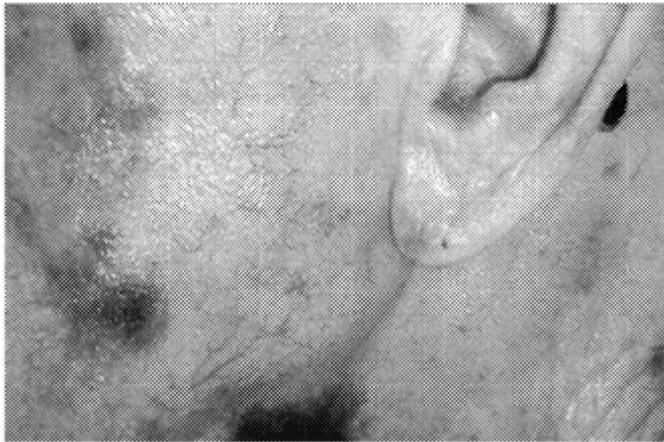


FIG. 4
Área de enfermedad de LE cutáneo e índice de seriedad (CLASI)
Seleccione la clasificación en cada ubicación anatómica que describe la lesión asociada con lupus cutáneo más seriamente afectada

| | ← actividad | daño → | |
|--------------------------------|--|---|--|
| Ubicación anatómica | Eritema | Escamación/hipertrofia | Despigmentación |
| | 0 - ausente; 1 - rosado; eritema apenas visible 2 - rojo; 3 - rojo oscuro; morado/violáceo/con costra/hemorrágico | 0 - ausente; 1 - Escamoso/ 2 - verrugoso/ hipertrofico | 0 - ausente 1 - despigmentación |
| Cuero cabelludo | | | 0 - ausente 1 - cicatrización o paniculitis seriamente atrófica |
| Orejas | | | Véase más adelante |
| Nariz (incluida el área malar) | | | |
| Resto del rostro | | | |
| Área V del cuello (frontal) | | | |
| Cuello posterior y/u hombros | | | |
| Pecho | | | |
| Abdomen | | | |
| Espalda, nalgas | | | |
| Brazos | | | |
| Manos | | | |
| Piernas | | | |
| Pies | | | |