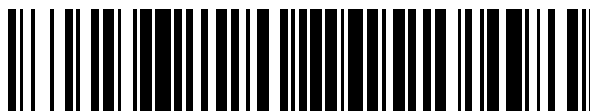


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 530**

51 Int. Cl.:

A61K 31/45	(2006.01)
A61K 31/454	(2006.01)
C07D 211/88	(2006.01)
A61K 47/00	(2006.01)
A61P 37/08	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01)
A61P 1/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2014 PCT/RU2014/000855**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.05.2015 WO15072893**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2014 E 14861410 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2019 EP 3069720**

54 Título: **Composición farmacéutica que contiene derivados de glutarimida, y la aplicación de la misma para el tratamiento de enfermedades eosinofílicas**

30 Prioridad:

14.11.2013 RU 2013150861

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.05.2020

73 Titular/es:

**"ChemImmune Therapeutics" Limited Liability Company (100.0%)
42 Bolshoj Blvd., Building 1, Floor 2, part of Office 771, Skolkovo Innovation Centre
Moscow 121205, RU**

72 Inventor/es:

**NEBOLSIN, VLADIMIR EVGENIEVICH;
KROMOVA, TATYANA ALEXANDROVNA;
RYDLOVSKAYA, ANASTASIA VLADIMIROVNA y
CHUCHALIN, ALEXANDER GRIGORIEVICH**

74 Agente/Representante:

GARCÍA GONZÁLEZ, Sergio

Observaciones:

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

ES 2 759 530 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

Composición farmacéutica que contiene derivados de glutarimida, y la aplicación de la misma para el tratamiento de enfermedades eosinofílicas

5 La presente invención se refiere al uso de un derivado de glutarimida biológicamente activo o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo como agente para el tratamiento de enfermedades eosinofílicas.

Antecedentes

10 Los eosinófilos son células de la inmunidad innata. Se producen en la médula ósea y, con preferencia, circulan en la sangre. La función efectora principal de los eosinófilos es una liberación inmediata de gránulos citoplasmáticos en respuesta a la activación por diversos estímulos. Los gránulos citoplasmáticos comprenden mediadores pro-inflamatorios: citocinas, quimiocinas, lípidos y neuromediadores, factores de crecimiento y proteínas catiónicas. Las proteínas catiónicas de los eosinófilos incluyen 4 clases: la proteína básica principal (MBP), la peroxidasa de eosinófilos (EPO), la proteína catiónica de eosinófilos (ECP), y la neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN). En combinación, estas proteínas tienen una acción citotóxica sobre ambos microorganismos infecciosos y tejidos de un huésped, que provoca una inflamación eosinofílica [Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, *et al.*, *Eosinophils: biological properties and role in health and disease//Clin Exp Allergy*. 2008; 38(5):709 a 750].

15 El recuento de los eosinófilos en la sangre normalmente es de 0,02 a 0,3 $10^9/L$, o 0,5 a 5% de los leucocitos totales. Un recuento de eosinófilos en sangre aumentado en relación con el nivel normal es la eosinofilia. La hipereosinofilia o eosinofilia grande es una afección cuando el contenido de eosinófilos en la sangre es de 15% o más, por lo general cuando aumenta el recuento total de leucocitos [Hoffman R, Benz Jr. EJ, Shattil SJ, *et al.*, Eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 4ta ed. Filadelfia, Pa: Churchill Livingstone; 2005:768].

20 Un nivel aumentado de eosinófilos en la sangre y tejidos acompaña a enfermedades de diversas etiologías y patogénesis. Incluyen invasiones parasitarias, un amplio espectro de enfermedades alérgicas, tales como el asma, la rinitis, los pólipos nasales, la colitis eosinofílica, el síndrome eosinofílico, la conjuntivitis alérgica, y la dermatitis atópica; enfermedades reumáticas (la artritis reumatoide, la fascitis difusa eosinofílica, el síndrome de Churg-Strauss, la periarteritis nodular); y patologías de etiología poco clara (la esofagitis eosinofílica, la gastroenteritis eosinofílica) [Blanchard C, Rothenberg ME. *Biology of the eosinophil// Adv Immunol*. 2009; 101:81 a 121].

25 Entre las enfermedades alérgicas, el asma bronquial, que es una enfermedad de las vías respiratorias inflamatoria crónica que se caracteriza por la obstrucción del flujo de aire episódica, la inflamación de las vías respiratorias, y por un aumento de la reactividad bronquial a los alérgenos no específicos, es médicamente más importante.

30 Hay una gran cantidad de evidencias de que los eosinófilos son un componente clave de una respuesta alérgica en el asma. La IL-3 e IL-5 secretadas por las células cebadas proporcionan la acumulación de eosinófilos en los pulmones, seguido por la activación de estas células, que se acompaña por la liberación de LTC₄, la proteína catiónica de eosinófilos, la proteína básica principal, la neurotoxina, la peroxidasa de eosinófilos (EPO), el factor de crecimiento transformante, y los radicales libres [Blanchard C, Rothenberg ME. *Biology of the eosinophil// Adv Immunol*. 2009; 101:81 a 121].

35 Se ha encontrado que la actividad del proceso inflamatorio en el asma está en correlación directa con el nivel sérico de proteína catiónica de eosinófilos [Bjornsson E., Janson C., Hakansson L. *et al.*, *Serum eosinophil cationic protein in relation to bronchial asthma in young Swedish population. Allergy* 1994; Vol. 49:400 a 407]. El líquido de lavado de los pacientes con asma bronquial tiene un mayor recuento de eosinófilos. La superficie celular de eosinófilos tiene receptores de baja afinidad para IgE y debido a que los eosinófilos pueden ser activados directamente por alérgenos de causa significativa. Además, se ha encontrado que la superficie celular de los eosinófilos tiene receptores para IL-2, IL-3, IL-5, GM-CSF, PAF, y las prostaglandinas. A través de estos receptores, las citocinas mencionadas con anterioridad y mediadores lipídicos son capaces de inducir la activación de eosinófilos que liberan mediadores (LTC₄, PAF) y citocinas (IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, GM-CSF, TGF β). La destrucción del epitelio de las vías respiratorias, que surge de la acción de proteínas de eosinófilos, provoca el desarrollo de la hiperreactividad bronquial y una reducción en la función de barrera del epitelio de las vías respiratorias.

40 Ahora, se está prestando una gran atención a la función de los eosinófilos en la regeneración y la remodelación de los tejidos a causa de una relación clara que se ha encontrado que existe entre la eosinofilia en los tejidos y algunas enfermedades fibrosas (la fibrosis endomiocárdica complicada con fibrosis hepática en pacientes con síndrome hipereosinofílico, la enfermedad de Hodgkin esclerosante nodular y la fibrosis subepitelial en el asma bronquial) [Noguchi H. *et al.*, *Tissue eosinophilia and eosinophil degranulation in syndromes associated with fibrosis// Am. J. Pathol*. 1992, Vol. 140. págs.. 521 a 528].

45 Los eosinófilos son una fuente de una pluralidad de factores fibrogénicos y de crecimiento, que incluyen el factor de crecimiento transformante- β (TGF- β), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)-2, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), la metaloproteinasas de matriz (MMP)-9, IL -1 β , IL-13 e IL-17. Los ensayos clínicos con anticuerpos anti-IL-5 también apoyaron el papel de los eosinófilos en los eventos asociados con la deposición de proteínas de matriz específicas en la membrana basal reticular [Kay AB, Phipps S, Robinson DS. *A role for*

eosinophils in airway remodeling in asthma//Trends Immunol. 2004, vol. 25, págs. 477 a 482].

Hoy en día, el procedimiento más común para el tratamiento del asma es el uso de corticosteroides (budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, furoato de mometasona) por medio de inhalación. Sin embargo, los corticosteroides funcionan por medio de la inducción de una acción inmunosupresora en general, y hay efectos secundarios adversos provocados por la administración a largo plazo de los mismos, tales como la presión arterial alta, la osteoporosis, y el desarrollo de cataratas [Barnes PJ. *New drugs for asthma*//Semin. Respir. Crit. Care Med. 2012; 33(6):685 a 694]. Los corticosteroides se deben administrar cada día, y por lo tanto el cumplimiento del paciente con este requisito es otro problema para la utilización con éxito de dichos agentes terapéuticos. Además, hay pacientes con corticosteroides y minúsculas que necesitan una terapia alternativa. La focalización selectiva de los eosinófilos puede superar los efectos secundarios provocados por el uso de agentes inmunosupresores sistémicos con acción pleiotrópica.

Los fármacos para la reducción de la eosinofilia por medio de la inhibición de la interacción entre la interleucina-5 y el receptor de IL-5R α en la superficie celular de los eosinófilos están actualmente en ensayos clínicos. Tales fármacos incluyen anticuerpos monoclonales humanizados anti-IL-5 (mAt) e inhibidores concurrentes de IL-5R α .

Entre los anticuerpos monoclonales neutralizantes IL-5, SB240563 (mepolizumab, Glaxo Smith Kline) es el más eficaz. Hay informes [Nair P, Pizzichini MMM, Kjarsgaard M, et al., *Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia*. NEJM. 2009; 360:985 a 993] de que la terapia con mepolizumab en pacientes con asma dependiente de prednisolona reduce la eosinofilia en la sangre y el esputo y, lo más importante, mejora la calidad del paciente por medio de la reducción de frecuencia de las exacerbaciones y una dosis de prednisolona. Otro ensayo clínico demostró que la administración de anticuerpos anti-IL-5 (Mepolizumab) a los pacientes con asma insensible a los corticosteroides también condujo a una reducción en la frecuencia de las exacerbaciones y mejora la calidad del paciente de acuerdo con el Cuestionario de Calidad de Vida del Asma (AQLQ). Además de la acción sobre el asma, este ensayo también mostró un efecto terapéutico contra rinosinusopatía poliposa [Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, et al., *Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma*. NEJM. 2009; 360:973 a 984].

En un ensayo clínico independiente en adultos con rinosinusopatía poliposa, mepolizumab redujo significativamente los niveles de ECP y una forma soluble de IL-5R α en la sangre, y la concentración de IL-5R α , IL-6 y IL-1b en la nariz, que se correlaciona con un alivio de la enfermedad, de acuerdo con la puntuación total de pólipos [Gevaert P, Van Bruaene N, Cattaert T, et al., *Mepolizumab, a humanized anti-IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis*. J. Allergy Clin. Immunol. 2011; 128(5):989 a 995].

El uso de anticuerpos anti-IL-5 no se limita al asma bronquial y la rinosinusopatía poliposa. Esta terapia también es eficaz en otras enfermedades mediadas por eosinófilos. Por ejemplo, en pacientes con síndrome hipereosinofílico, la terapia con mepolizumab reduce la eosinofilia en la sangre y hace posible reducir la dosis administrada de prednisolona [Rothenberg ME, Klion AD, Roufosse FE, et al., *Treatment of patients with the hypereosinophilic syndrome with mepolizumab*. NEJM. 2008; 358(12):1215 a 1228]. Los pacientes con esofagitis eosinofílica tratados con anticuerpos anti-IL-5 mostraron un cuadro clínico mejorado asociado con un disfagia reducida y una reducción de seis veces en el recuento de eosinófilos en la sangre, y en algunos pacientes, se redujo la hiperplasia epitelial esofágico [Stein ML, Collins MH, Villanueva JM, et al., *Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy for eosinophilic esophagitis*. J Allergy Clin Immunol. 2006; 118(6):1312 a 1319]. Los ensayos clínicos del fármaco en niños mostraron que los pacientes que tienen en la sangre no más de 20 eosinófilos en un campo de microscopio había mejorado los síntomas, tales como el enrojecimiento, la fragilidad y las ranuras y las líneas verticales en la mucosa esofágica [Assa'ad AH, Gupta SK, Collins MH, et al., *An antibody against IL-5 reduces numbers of esophageal intraepithelial eosinophils in children with eosinophilic esophagitis*. Gastroenterology. 2011; 141(5):1593 a 1604].

El mepolizumab también se utiliza con éxito como terapia de la vasculitis eosinofílica [Kahn JE, Grandpeix-Guyodo C, Marroun I, et al., *Sustained response to mepolizumab in refractory Churg-Strauss syndrome*. J Allergy Clin Immunol. 2010; 125:267 a 270]. En una hembra de 28 años de edad, la administración mensual de mepolizumab redujo el recuento de eosinófilos en sangre a la normalidad, evitó la formación de asma con corticosteroides, y sobre la base de datos de rayos x, mejoró la condición del parénquima pulmonar [Kim S, Marigowda G, Oren E, Israel E, Wechsler M. *Mepolizumab as a steroid-sparing treatment option in patients with Churg-Strauss syndrome*. J Allergy Clin. Immunol. 2010; 125:1336 a 1343]. En los ensayos clínicos en pacientes con vasculitis eosinofílica y eosinofilia pronunciada, la terapia con mepolizumab hizo posible reducir la dosis de corticosteroides. La eosinofilia también se redujo, pero después de la finalización del ensayo, se repitió la exacerbación [Oldhoff JM, Darsow U, Werfel T, et al., *Anti-IL-5 recombinant humanized monoclonal antibody (mepolizumab) for the treatment of atopic dermatitis*. Allergy. 2005; 60(5):693 a 696].

El mepolizumab se informó [Amini-Vaughan ZJ, Martínez-Moczygemba M, Huston DP. *Therapeutic strategies for harnessing human eosinophils in allergic inflammation, hypereosinophilic disorders, and cancer* //Curr. Allergy Asthma Rep. 2012, vol. 12, Núm. 5. págs. 402 a 412] que estaba en la segunda fase de los ensayos clínicos de la terapia para el asma, la esofagitis eosinofílica en los adultos, la esofagitis eosinofílica en niños, la vasculitis eosinofílica, y las rinosinusopatías poliposas, y en la tercera fase de ensayos clínicos como un tratamiento del síndrome hipereosinofílico, la esofagitis eosinofílica en niños, el asma inducido por rinovirus, y la bronquitis obstructiva crónica. Otro medicamento, reslizumab (Cephalon), que también es un anticuerpo monoclonal

humanizado anti IL-5 SCH55700, se encuentra en la segunda fase de ensayos clínicos como un tratamiento para el síndrome hipereosinofílico y la loiasis, y en la tercera fase como una terapia para el asma y la esofagitis eosinofílica en los niños. Todos estos permiten llegar a la conclusión de que la terapia selectiva dirigida a la reducción de la eosinofilia es un enfoque prospectivo para el tratamiento de enfermedades mediadas por este tipo de células (el asma bronquial, la rinitis alérgica, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, la rinosinusopatía poliposa, la esofagitis eosinofílica, la vasculitis eosinofílica y el síndrome hipereosinofílico).

Sin embargo, la terapia de mAt tiene varios inconvenientes. Los anticuerpos monoclonales son agentes terapéuticos caros que se deben administrar durante un mes o dos. Un factor importante es un problema de la falta de cumplimiento del paciente con la orden del médico, que es debido a las múltiples visitas al consultorio de un médico para recibir las inyecciones del fármaco. Además, la divergencia de alotipo entre un paciente y un anticuerpo terapéutico puede conducir a que la terapia basada en anticuerpos monoclonales se vuelva ineficaz. Una alta dosis de mAt y una posibilidad de formación de complejos inmunes también puede reducir la eficacia de la inmunización pasiva.

Otros procedimientos que proporcionan agentes terapéuticos contra afecciones patológicas caracterizados por eosinofilia se divulgan en WO 97/45448 y WO 03/040164. La solicitud WO 97/45448 proporciona el uso de "formas modificadas y variantes de las moléculas de IL5 capaces de antagonizar o reducir, de otra manera, la actividad de IL5" para mejorar, aliviar o reducir los efectos desviados de la norma, que son provocados por las formas nativas y mutantes de IL5. Se ha informado de que la acción antagonista es el resultado de formas variantes de IL5 que se unen con la cadena de baja afinidad de IL5R pero no con receptores de alta afinidad. De tal manera, las variantes compiten con IL5 para la unión con sus receptores sin ningún efecto sobre la acción fisiológica de IL5.

La solicitud WO 03/040164 proporciona una composición para la vacunación dirigida a la formación endógena de anticuerpos para IL-5, IL-13, y eotaxina, es decir, a los factores claves de la maduración, la activación, la localización, y la vitalidad de los eosinófilos. La composición comprende una partícula similar a virus y por lo menos una proteína o péptido de IL-5, IL-13 y/o eotaxina unida a la misma. De acuerdo con la presente invención, dicha composición es útil en la producción de vacunas para el tratamiento de enfermedades alérgicas con un componente eosinofílico y como farmacina para prevenir o curar enfermedades alérgicas con un componente eosinofílico.

La solicitud Núm. 8501176 proporciona el uso de anticuerpos que se unen a IL-5R. Estos anticuerpos comprenden un sitio de unión que reconoce receptores de IL-5 (IL-5R) y un fragmento de Fc. El procedimiento reivindicado reduce el recuento de eosinófilos en la sangre, la médula ósea, el tracto gastrointestinal (por ej., esófago, estómago, intestino delgado e intestino grueso), o los pulmones, lo que reduce las manifestaciones clínicas del asma y la bronquitis crónica obstructiva de los pulmones en seres humanos (<http://www.patentgenius.com/patent/8501176.html>).

Yong Sup Lee *et al.*, en *Studies on the site-selective N-acyliminium ion cyclization: synthesis of (6)-glochidine and (6)-glochidicine*, *Heterocycles*, Vol. 37, Núm. 1. 1994, divulgan la preparación de histamina succinimida por medio de la fusión de diclorhidrato de histamina junto con anhídrido succínico bajo calentamiento de los reactivos iniciales a 200 a 230 °C durante 40 minutos.

La publicación de la solicitud internacional WO 2007/007054 divulga derivados de succinimida y glutarimida de la fórmula general (I), que tiene una acción inhibitoria sobre la metilación del ADN en las células, en particular en las células tumorales. Los compuestos divulgados en dicha publicación se preparan por medio de una reacción de adición entre un derivado amino que comprende una cadena de hidrocarburo y un anhídrido o ácido correspondiente, o éster, seguido por una ciclación opcional, si es necesario en presencia de una base.

Los procedimientos descritos de imidas de síntesis de ácido glutárico comprenden el calentamiento de un ácido dicarboxílico o un derivado del mismo, tal como anhídrido, diéster, etc., con una amina primaria o amida del mismo (ciclación térmica) [Weigand-Hilgetag, *Ekspierimentalnye metody v Organicheskoi Khimii* [Procedimientos experimentales en Química Orgánica], ed. por N. N. Suvorov, M., Khimiya, 1968; pág. 446], la ciclación de monoamidas de ácidos dicarboxílicos correspondientes mediante el uso de un agente de deshidratación como un reactivo de activación del grupo carboxílico, tal como anhídrido acético [Shimotori *et al.*, *Asymmetric synthesis of δ -lactones with lipase catalyst*. *Flavor and Fragrance Journal*, 2007, V. 22, Núm. 6, págs. 531 a 539], cloruro de acetilo [Ito *et al.*, *Chemo-selective Hydrogenation of Imides Catalyzed by CpRu(PN) Complexes and Its Application to the Asymmetric Synthesis of Paroxetine*.//*Journal of the American Chemical Society*, 2007, V. 129, Núm. 2, págs. 290 y 291], carbonildiimidazol [Polniaszek, *et al.*, *Stereoselective nucleophilic additions to the carbon-nitrogen double bond. 3. Chiral acyliminium ions*.//*Journal of Organic Chemistry*, 1990, V. 55, Núm. 1, págs. 215 a 223], anhídridos glutáricos o succínicos [Ainhua Ardeo *et al.*, *A practical approach to the fused β -carboline system. Asymmetric synthesis of indolo[2,3-a]indolizidinones via a diastereoselective intramolecular α -amidoalkylation reaction*.//*Tetrahedron Letters*, 2003, 44, 8445 a 8448].

La publicación internacional de la solicitud de patente WO2007/000246 proporciona un procedimiento de síntesis de glutarimidias por medio de la alquilación de piperidin-2,6-diona y pirrolidin-2,5-diona con derivados de halo correspondientes en DMF, seguido por la separación de los derivados de imida sustituidos diana por medio de cromatografía preparativa, que no es aplicable para la síntesis de cantidades macro.

La publicación internacional de la solicitud de patente WO94/24133 divulga compuestos con por lo menos una cadena lateral de anillo sustituido unida a un resto de núcleo, y esos compuestos son agentes efectivos para inhibir eventos específicos de señalización celular a menudo inducidos por estímulos inflamatorios, o para ser de manera directa o indirecta antimicrobiano a las infecciones por levadura u hongos.

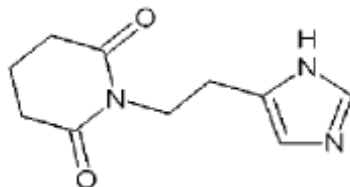
- 5 La solicitud de patente europea EP 0365210 A1 divulga derivados de ácido hidroxámico que presentan una actividad inhibidora de lipoxigenasa potente, que son útiles para el tratamiento del asma bronquial, diversos síntomas alérgicos (por ej., la rinitis alérgica) y enfermedades inflamatorias.

- La solicitud de patente europea EP 2985282 A1 divulga derivados de glutarimida para el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias superiores, como infecciones por rinovirus, la rinitis contagiosa provocada por los virus de Coxsackie y las exacerbaciones de asma provocadas por un rinovirus.
- 10

- Por lo tanto, el objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto para su uso en el tratamiento de enfermedades eosinofílicas, con preferencia de naturaleza alérgica, a saber, el asma bronquial, la rinitis alérgica, las rinosinusopatías poliposas, la colitis eosinofílica, el síndrome eosinofílico, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, el síndrome de Churg-Strauss, el choque anafiláctico, el edema de Quincke, la vasculitis eosinofílica, la esofagitis eosinofílica, la gastroenteritis eosinofílica y la fibrosis.
- 15

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un derivado de glutarimida de la fórmula (a):



- o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, para su uso en el tratamiento de enfermedades eosinofílicas, con preferencia de naturaleza alérgica, en el que las enfermedades eosinofílicas son el asma bronquial, la rinitis alérgica, las rinosinusopatías poliposas, la colitis eosinofílica, el síndrome eosinofílico, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, el síndrome de Churg-Strauss, el choque anafiláctico, el edema de Quincke, la vasculitis eosinofílica, la esofagitis eosinofílica, la gastroenteritis eosinofílica o la fibrosis, de acuerdo con lo divulgado en la solicitud RU 2013116826 del 12.04.2013.
- 20

- Los inventores han encontrado que los derivados de glutarimida suprimen la eosinofilia en varios modelos de inflamación en todos los medios probados (sangre, el lavado broncoalveolar (BAL), y los tejidos). En particular, en el modelo de inflamación pulmonar inducida por Sephadex en ratas, los derivados de glutarimida reducen el recuento de eosinófilos en el BAL, y en el modelo de asma inducido por ovoalbúmina en cobayos, los derivados de glutarimida reducen la eosinofilia en el BAL y la sangre.
- 25

- De este modo, en el tratamiento de enfermedades eosinofílicas de acuerdo con lo definido en la reivindicación 1, una cantidad eficaz de un derivado de glutarimida de la fórmula (a) o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo se administra a un paciente.
- 30

- Otro objeto de la presente invención es una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de enfermedades eosinofílicas, con preferencia de naturaleza alérgica, en el que las enfermedades eosinofílicas son el asma bronquial, la rinitis alérgica, las rinosinusopatías poliposas, la colitis eosinofílica, el síndrome eosinofílico, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, el síndrome de Churg-Strauss, el choque anafiláctico, el edema de Quincke, la vasculitis eosinofílica, la esofagitis eosinofílica, la gastroenteritis eosinofílica o la fibrosis, la composición comprende una cantidad eficaz de un derivado de glutarimida de la fórmula (a) o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, y un vehículo aceptable para uso farmacéutico.
- 35

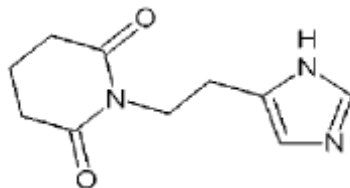
- La síntesis del derivado de glutarimida mencionado con anterioridad de la fórmula (a) se divulga en la solicitud RU 2013116826 del 12.04.2013.
- 40

- El compuesto para su uso en la presente invención se puede preparar por medio de un procedimiento que comprende el calentamiento de monoamidas de ácido dicarboxílico iniciales con un agente de deshidratación en un disolvente orgánico o en el agente de deshidratación como tal, de manera opcional por medio de la adición de acetato de sodio. El agente de deshidratación utilizado en el procedimiento puede incluir anhídridos de ácidos dicarboxílicos, cloroanhídridos de ácidos orgánicos, y carbonildiimidazol.
- 45

Las monoamidas de ácido dicarboxílico iniciales y los procedimientos para la preparación de las mismas se divulgan en la publicación de la solicitud internacional WO 1999/001103.

Descripción detallada de la invención

El compuesto para su uso en la presente invención es un compuesto de la fórmula (a)



o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo.

- 5 La sal aceptable para uso farmacéutico del compuesto para su uso en la presente invención puede incluir sales de adición de ácidos orgánicos (por ej., formiato, acetato, maleato, tartrato, metanosulfonato, bencenosulfonato, toluenosulfonato, etc.), sales de adición de ácidos inorgánicos (por ejemplo, clorhidrato, hidrobromuro, sulfato, fosfato, etc.), y sales con aminoácidos (por ej., una sal de ácido asparagínico, una sal de ácido glutámico, etc.), con preferencia clorhidratos y acetatos.

- 10 El derivado de glutarimida de la fórmula (a) es terapéuticamente activo contra las enfermedades eosinofílicas.

El compuesto para su uso en la presente invención se utiliza para el tratamiento del asma bronquial, la rinitis alérgica, las rinosinusopatías poliposas, la colitis eosinofílica, el síndrome eosinofílico, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, el síndrome de Churg-Strauss, el choque anafiláctico, el edema de Quincke, la vasculitis eosinofílica, la esofagitis eosinofílica, la gastroenteritis eosinofílica y la fibrosis.

- 15 El compuesto para su uso en la presente invención se administra en una cantidad eficaz que proporciona un efecto terapéutico deseado.

El compuesto de la fórmula (a) se puede administrar por vía oral, tópica, parenteral, intranasal, por inhalación, y por vía rectal en una forma de dosificación unitaria que comprende un vehículo aceptable para uso farmacéutico no tóxico.

- 20 El término "administración parenteral" de acuerdo con lo usado en la presente memoria significa inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular o infusión.

El compuesto para su uso en la presente invención se puede administrar a un paciente a una dosis de 0,1 a 30 mg/kg de peso corporal una vez al día, con preferencia a una dosis de 0,25 a 10 mg/kg una o más veces al día.

- 25 Además, se debe señalar que una dosis particular para un paciente en particular depende de muchos factores, que incluyen la actividad de un compuesto utilizado, la edad del paciente, el peso corporal, el sexo, el estado de salud general, la dieta, y también en el tiempo y la vía de administración de un agente terapéutico, la tasa de su excreción del cuerpo, una combinación particularmente utilizada de agentes terapéuticos, y la gravedad de la enfermedad en un individuo que se ha de tratar.

- 30 La composición farmacéutica para su uso en la presente invención comprende un compuesto de la fórmula (a) en una cantidad eficaz para lograr un resultado técnico deseado, y se puede administrar en una forma de dosificación unitaria (por ejemplo, en forma sólida, semisólida o líquida) que comprende el compuesto para su uso en la presente invención como componente activo en una mezcla con un vehículo o un excipiente adecuado para la administración intramuscular, intravenosa, oral, sublingual, inhalación, intranasal e intrarrectal. En la composición, el componente activo puede estar en combinación con vehículos aceptables para uso farmacéutico no tóxicos convencionales
35 adecuados para la fabricación de soluciones, comprimidos, píldoras, cápsulas, grageas, supositorios, emulsiones, suspensiones, ungüentos, geles, y cualesquiera otras formas de dosificación.

- Los compuestos que se pueden utilizar como un excipiente son diversos compuestos, tales como sacáridos, por ejemplo, glucosa, lactosa o sacarosa, manitol o sorbitol, derivados de celulosa, y/o fosfato de calcio, por ejemplo, fosfato tricálcico o fosfato de calcio ácido. Los compuestos que se pueden utilizar como un aglutinante, compuestos de tara, tales como pasta de almidón, por ejemplo, maíz, trigo, arroz y almidón de patata, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, y/o polivinilpirrolidona. Si es necesario, se puede usar un agente de desintegración, tales como los almidones mencionados con anterioridad y carboximetil almidón, polivinilpirrolidona reticulada, agar, o ácido alginico o una sal del mismo, tal como alginato de sodio.

- 40 Los aditivos que se pueden usar de manera opcional incluyen agentes de control de fluidez y lubricantes, tales como dióxido de silicio, talco, ácido esteárico y sales de los mismos, tales como estearato de magnesio o estearato de calcio, y/o propilenglicol.

- 45 El núcleo de una píldora recubierta por lo general se recubre con una capa que es resistente al ácido gástrico. Para

este propósito, se puede utilizar una solución concentrada de sacáridos que de manera opcional pueden comprender goma árabe, talco, polivinilpirrolidona, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, y disolventes orgánicos adecuados o sales de los mismos.

Los aditivos también pueden incluir estabilizadores, agentes espesantes, colorantes y fragancias.

- 5 Como una base de pomada, se pueden utilizar bases de pomadas de hidrocarburos, tales como vaselina blanca y vaselina amarilla (*Vaselineum album* y *Vaselineum flavum*), aceite de vaselina (*Oleum Vaselinei*), y pomada blanca y unguento líquido (*Unguentum album* y *Unguentum flavum*), y se pueden utilizar sustancias, tales como parafina sólida o cera, como un aditivo que proporciona una textura más firme; bases de unguento de absorción, tales como vaselina hidrofílica (*Vaselineum hydrophylicum*), lanolina (*Lanolinum*) y crema fría (*Unguentum leniens*); bases de pomada extraíbles en agua, tal como pomada hidrofílica (*Unguentum hydrophyllum*); bases de pomada solubles en agua, tales como pomada de polietilenglicol (*Unguentum Glycolis Polyethyleni*); bases de bentonita; y otros.

Se puede utilizar metilcelulosa, sal sódica de carboximetilcelulosa, oxipropilcelulosa, polietilenglicol, óxido de polietileno, o carbopol como una base para geles.

- 15 Las bases para supositorios pueden ser bases insolubles en agua, tales como manteca de cacao; bases solubles en agua o miscibles en agua, tales como gelatina de glicerol o bases de óxido de polietileno; o bases combinadas, tales como bases de jabón de glicerol.

Cuando se prepara una forma de dosificación unitaria, la cantidad de un agente activo utilizado en combinación con un vehículo puede variar dependiendo de un recipiente bajo el tratamiento y en un procedimiento particular de administración del agente terapéutico.

- 20 Por ejemplo, cuando se usa el compuesto para su uso en la presente invención en forma de una solución para inyección, la cantidad de agente activo en esta solución es de hasta 5% en peso. Un diluyente puede ser una solución de cloruro de sodio al 0,9%, agua destilada, una solución de novocaína para inyección, una solución de Ringer, una solución de glucosa, o un adyuvante de solubilización específico. Cuando se administra el compuesto para su uso en la presente invención en la forma de un comprimido o supositorio, su cantidad es de hasta 200 mg por forma de dosificación unitaria.

Las formas de dosificación de acuerdo con la presente invención se preparan por procedimientos convencionales, tales como mezcla, granulación, formación de una pastilla de recubrimiento, disolución y liofilización.

- 30 Se debe señalar que el compuesto para su uso en la presente invención no tiene efectos secundarios y contraindicaciones para la administración. Además, los casos mortales en los animales experimentales no fueron registrados en las pruebas de toxicidad de los compuestos para su uso en la presente invención, administrados por vía oral a una dosis de 1500 mg/kg.

La descripción detallada del compuesto para su uso en los presentes compuestos de la presente invención y de referencia, y los estudios de su actividad farmacológica se divulgan en los siguientes ejemplos que están destinados para propósitos de ilustración solamente y no están destinados a limitar el alcance de la presente invención.

35 Parte experimental

La síntesis del derivado de glutarimida mencionado con anterioridad de la fórmula (a) se divulga en la solicitud RU 2013116826 del 12.04.2013.

Ejemplos de la síntesis del derivado de glutarimida de la fórmula (a) y los compuestos de referencia

Materiales y procedimientos

- 40 La identidad de los compuestos obtenidos se evaluaron por el procedimiento de cromatografía en capa fina (TLC) sobre placas de "Kieselgel 60 F254" ("Merck", alemán) en un sistema de disolvente: cloroformo-metanol (9:1) (1), cloroformo-metanol (1:1) (2).

Los cromatogramas y electroforegramas se tiñeron con un reactivo de clorotetrametilbenceno y reactivo de Pauly.

- 45 El sistema LC/MS para el análisis de mezclas multicomponentes Shimadzu HPLC Analítica SCL10Avp; espectrómetro de masas PE Sciex API 165 (150) (Canadá). Condiciones: columna: Waters ACQUITY UPLC BEH C18 2,1 × 50 mm 1,7 μm, sistema de elución de gradiente: agua con 0,1% de HCOOH - acetonitrilo con 0,1% de HCOOH.

- 50 Se llevó a cabo HPLC en fase inversa a escala analítica en un cromatógrafo Shimadzu HPLC en las siguientes condiciones: columna: Luna C18(2) 100A, 250 × 4,6 mm (número de serie 599779-23), sistema de elución de gradiente: una solución tampón de fosfato (pH 3,0): metanol (condición A); columna: Merk.LiChroCART 250 × 4 mm 5 μm LiChrospher 100RP-8E 5 μmC8 (número de serie 1.50837.0001), sistema de elución de gradiente: una solución tampón de acetato de amonio (pH 7,5): acetonitrilo (condición B); sistema de elución de gradiente: un

tampón que contiene 0,0025M de 1-hexilsulfonato de sodio (pH 3):acetonitrilo (condición C); y la columna: Simetría C18 150 × 4,6 mm, sistema de elución de gradiente: una solución tampón que contiene 0,0025M de 1-hexilsulfonato de sodio (pH 3):acetonitrilo (condición D).

Los espectros de RMN de ^1H se registraron en un espectrómetro (Bruker DPX-400, alemán).

- 5 Se obtuvieron espectros de masa de alta resolución en un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo por medio de un procedimiento de ionización de desorción de láser asistido por medio de una matriz con ácido 2,5-dihidroxibenzoico usado como una matriz, en un espectrómetro de masas Ultraflex ("Bruker", alemán).

Ejemplo 1

1-(2-(1H-imidazol-4-il)etil)piperidin-2,6-diona (compuesto 1 de la fórmula (a))

- 10 Se llenaron N,N'-dimetilformamida (60 ml) y 2-(imidazol-4-il)-etanamida de ácido pentandioico-1,5 (20 g) en un matraz de fondo plano de 250 ml. Se añadió carbonildiimidazol (17,3 g; 1,2 equiv.) bajo agitación vigorosa. La mezcla de reacción se calentó con agitación a 90 °C durante 2 horas. La reacción se controló por medio de espectroscopía de RMN de ^1H (una muestra (0,5 ml) se diluyó con un éter sulfúrico, y el precipitado se disolvió en DMSO- d_6). Cuando la 2-(imidazol-4-il)-etanamida del ácido pentandioico-1,5 inicial estaba ausente en la masa de
15 reacción, la masa se enfrió y se vertió en un volumen de tres veces de metil ter-butil éter (180 ml). La mezcla de reacción se dejó en reposo durante 1 hora, y el precipitado se filtró, se lavó con 60 ml de metil ter-butil éter, y se secó. El rendimiento de la 1-(2-(1H-imidazol-4-il)etil)piperidin-2,6-diona fue de 12,4 g (67%).

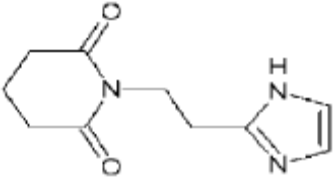
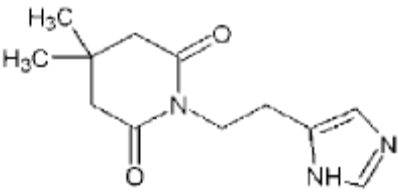
- La 1-(2-(1H-imidazol-4-il)etil)piperidin-2,6-diona sin refinar (12 g) e isopropanol (36 mg) se llenaron en un matraz de fondo plano de 100 ml. La mezcla se calentó para completar la disolución del residuo, a continuación, se añadieron
20 1,2 g de carbón activado a la misma, y la mezcla se envejeció a temperatura de ebullición durante una hora. La solución caliente se filtró a través de un filtro de cerámica calentado previamente. El residuo en el filtro se lavó con 6 ml de isopropanol caliente. La solución madre caliente se enfrió a temperatura ambiente y se dejó reposar para la cristalización hasta el día siguiente bajo agitación. Los cristales precipitados se filtraron, se lavaron con 6 ml de isopropanol frío y se secaron. Después de la recristalización, la cantidad de la 1-(2-(1H-imidazol-4-il)etil)piperidin-2,6-
25 diona obtenida fue de 10,1 g (84%). Rf0,43 (1). El producto se analizó con un procedimiento de LC/MS: un pico individual a un tiempo de retención de 1,57 min; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 208$. HPLC bajo la condición A: un pico individual a un tiempo de retención de 15,5 min. RMN de ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6 , δ , m.d., J/Hz): 1,81 (quint, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J = 6,5 Hz), 2,58 (m, 6H, CH_2C , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3,82 (t, 2H, CH_2N , J = 7,8 Hz), 6,77 (br.s, 2H, CCH), 7,49 (s, 1H, NCHN), 11,81 (br.s, 1H, NH).

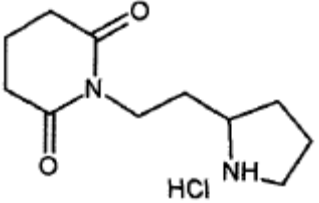
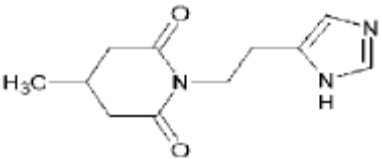
- 30 Si es necesario, en la síntesis del compuesto para su uso en la presente invención, el átomo de nitrógeno en heterociclos puede estar protegido mediante el uso de, por ejemplo, un grupo protector carbamato, tal como un grupo terc-butoxicarbonilo (Boc).

Los compuestos de referencia presentados en la Tabla 2 se obtuvieron de acuerdo con el procedimiento indicado con anterioridad.

35

Tabla 2

El número de un compuesto de referencia	Fórmula estructural	Datos físicos y químicos
2		LC/MS: un pico individual a un tiempo de retención de 0,41 min, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 208$. HPLC bajo la condición B: un pico individual a un tiempo de retención de 16,72 min. RMN de ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6 , δ , m.d., J/Hz): 1,82 (quint, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J = 6,5 Hz); 2,57 (t, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, J = 6,5 Hz); 2,72 (t, 2H, CH_2C , J = 7,5 Hz); 3,90 (t, 2H, CH_2N , J = 7,5 Hz); 6,86 (s, 2H, CH_2N , J = 7,5 Hz); 11,72 (br.s, 1H, NH)
3		LC/MS: un pico individual a un tiempo de retención de 0,41 min, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 236$. HPLC bajo la condición A: un pico individual a un tiempo de retención de 22,16 min. RMN de ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6 , δ , m.d., J/Hz): 0,91 (s, 6H, CH_3); 2,58 (m, 6H, CH_2C , CH_2CCH_2); 3,86 (t, 2H, CH_2N , J = 7,3 Hz.); 6,60, 6,85 (br.s, 1H, CCH); 7,50 (br.s, 1H, NCHN); 11,8 (br.s, 1H, NH)

7		<p>LC/MS: un pico individual a un tiempo de retención de 0,74 min, $[M+H]^+ = 211$. HPLC bajo la condición C, un pico individual a un tiempo de retención de 10,8 min. RMN de 1H (400,13 MHz, DMSO-d_6, δ, m.d., J/Hz): 1,52 (m, 1H, piperidina), 1,72 (m, 1H, piperidina), 1,86 (m, 5H, piperidina + $CH_2CH + COCH_2CH_2CH_2CO$), 2,10 (m, 1H, piperidina), 2,61 (t, 4H, $COCH_2CH_2CH_2CO$, J = 6,4 Hz), 3,10 (m, 2H, piperidina), 3,30 (m, 1H, piperidina), 3,68 (m, 2H, CH_2N), 8,93 (s, 1H, NH)</p>
8		<p>LC/MS: un pico individual a un tiempo de retención de 1,9 min, $[M+H]^+ = 222$. HPLC bajo la condición C, un pico individual a un tiempo de retención de 13,8 min. RMN de 1H (400,13 MHz, DMSO-d_6, δ, m.d., J/Hz): 0,95 (d, 3H, CH_3, J = 6,5 Hz), 2,15 (m, 1H, $COCH_2CHCH_2CO$); 2,35 (m, 2H, CH_2C); 2,62 (m, 4H, $COCH_2CHCH_2CO$), 3,82 (t, 2H, CH_2N, J = 7. 8 Hz), 6,80 (s, 1H, CCH), 7,56 (s, 1H, $NCHN$)</p>

Ejemplo de Referencia 2

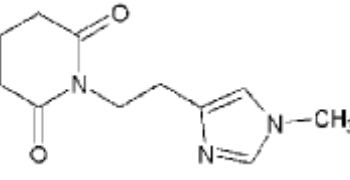
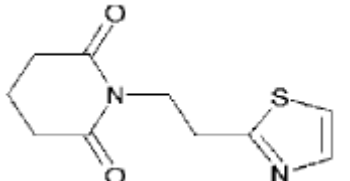
1-(2-(1,3-benzotiazol-2-il)etil)piperidin-2,6-diona (compuesto de referencia 4)

5 Una mezcla de 2-(1,3-benzotiazol-2-il)etanamida del ácido pentandioico-1,5 (22 g; 0,075 mol) y anhídrido acético (23 g; 0,225 mol) se hirvió en 150 ml de dioxano durante 3 horas. El dioxano se eliminó al vacío, se añadieron 200 ml de agua, y la mezcla se neutralizó con hidróxido de sodio al 30% a pH neutro. El aceite precipitado se trituró hasta que se formaron cristales. El precipitado se purificó por medio de cromatografía (SiCO₂ 60 a 100 μ m, eluyente: acetato de etilo-hexano (1: 1). LC/MS, un pico individual a un tiempo de retención de 2,26 min $[M+H]^+ = 275$. HPLC bajo la condición A, un pico individual a un tiempo de retención de 9,3 min RMN de 1H (400,13 MHz, DMSO- d_6 , δ , m.d., J/Hz): 1,85 (quint, 2H, $CH_2CH_2CH_2$, J = 6,8 Hz); 2,59 (t, 4H, $CH_2CH_2CH_2$, J = 6,8 Hz); 3,24 (t, 2H, CH_2C , J = 7,3 Hz); 4,08 (t, 2H, CH_2N , J = 7,3 Hz); 7,43, 7,49 (t, 1H, Ar, J = 7, 6 Hz); 7,96, 8,04 (d, 1H, Ar, J = 7, 6 Hz).

10

Los compuestos de referencia presentados en la Tabla 2 se obtuvieron de acuerdo con el procedimiento indicado con anterioridad.

Tabla 3

El número de un compuesto de referencia	Fórmula estructural	Datos físicos y químicos
5		<p>LC/MS: un pico individual a un tiempo de retención de 0,21 min, $[M+H]^+ = 222$. HPLC bajo la condición B, un pico individual a un tiempo de retención de 20,7 min. RMN de 1H (400,13 MHz, DMSO-d_6, δ, m.d., J/Hz): 1,82 (quint, 2H, $CH_2CH_2CH_2$, J = 6,4 Hz), 2,53 (m, 2H, CH_2C), 2,58 (t, 4H, $CH_2CH_2CH_2$, J = 6,4 Hz), 3,57 (s, 3H, NMe), 3,80 (t, 2H, CH_2N, J = 7. 8 Hz), 6,85 (s, 1H, CCH), 7,42 (s, 1H, NCHN)</p>
6		<p>LC/MS: un pico individual a un tiempo de retención de 1,43 min, $[M+H]^+ = 225$. HPLC bajo la condición A, un pico individual a un tiempo de retención de 31,28 min. RMN de 1H (400,13 MHz, DMSO-d_6, δ, m.d., J/Hz): 1,82 (quint, 2H, $CH_2CH_2CH_2$, J = 6,5 Hz), 2,58 (t, 4H, $CH_2CH_2CH_2$, J = 6 5 Hz), 3,12 (t, 2H, CH_2C, J = 7. 4 Hz), 3,97 (t, 2H, CH_2N, J = 7,4 Hz), 7,58 (d, 1H, SCH, J = 3,2 Hz), 7,70 (d, 1H, NCH, J = 3,2 Hz)</p>

15

Ejemplo 3

Comprimidos recubiertos, 2 mg, 10 mg, y 100 mg

Composición de un comprimido recubierto

Componente	2 mg	10 mg	100 mg
<i>Agente activo:</i>			
Compuesto de la fórmula (a)	2,00 mg	10 mg	100 mg
<i>Aditivos:</i>			
Celulosa microcristalina	47,70 mg	70,55 mg	95,90 mg
Monohidrato de lactosa	49,00 mg	67,50 mg	99,00 mg
Glicolato de almidón de sodio	0,50 mg	0,75 mg	1,50 mg
Talco	0,40 mg	0,60 mg	1,20 mg
Estearato de magnesio	0,40 mg	0,60 mg	2,40 mg
Peso del núcleo del comprimido	100,00 mg	150,00 mg	300,00 mg
Recubrimiento de película	3,00 mg	4,50 mg	9,00 mg
Peso del comprimido	103,00 mg	154,50 mg	309,00 mg

Pruebas de actividad biológica

Materiales y procedimientos

5 Se llevó a cabo un estudio morfológico de las preparaciones histológicas mediante el uso de un microscopio de luz óptico (Leica DM LS, Leica Microsystems, alemán). El análisis micromorfométrico se llevó a cabo mediante el uso de una escala micrómetro ocular montada en el microscopio Leica DM LS. Se hicieron fotomicrografías con una cámara de fotos digital (Leica DC 320).

10 El análisis matemático de los resultados obtenidos se llevó a cabo mediante el uso de procedimientos estadísticos de variación con el software Statistica 6.0. Los datos se analizaron con estadísticas descriptivas: la distribución normal de los datos se verificó de acuerdo con la prueba de Shapiro-Wilk. Dado que todos los datos se ajustaban a la distribución normal, el análisis de la varianza entre grupos se hizo por procedimientos paramétricos, tales como la prueba t de Student. Las diferencias se consideraron significativas si $p < 0,05$.

Un número infinito de ejemplos proporcionados a continuación ilustran la actividad biológica del compuesto de la fórmula (a) de acuerdo con lo definido en las reivindicaciones y los compuestos de referencia.

15 **Ejemplo 4**

Evaluación de la eficacia del compuesto de la fórmula (a) y los compuestos de referencia en un modelo de conejillo de indias de asma

20 El asma bronquial en los conejillos de indias se indujo por medio de un procedimiento estándar [Ricciardolo FL, Nijkamp F, De Rose V, Folkerts G. *The guinea pig as an animal model for asthma// Current Drug Targets*. Junio de 2008; 9(6):452 a 465]. Los animales se inmunizaron por medio de una administración parenteral de 0,5 ml de una solución que comprendía 100 µg/ml de ovoalbúmina (Sigma) y 100 mg/ml de hidróxido de aluminio. Los animales intactos recibieron una solución salina fisiológica en una cantidad de 0,5 ml.

25 En los días 29, 30 y 31, la hiperactividad de las vías respiratorias fue provocada por la administración por inhalación de ovoalbúmina en concentraciones ascendentes de 0,1, 0,3, y 0,5 mg/ml en los días 1, 2 y 3 de la provocación, respectivamente. La inhalación duró 5 minutos o hasta que los síntomas de asfixia se hicieron aparentes (caída a un lado). En el día 32, los animales recibieron una dosis de desafío de ovoalbúmina (1 mg/ml) durante 5 minutos, mientras que se evaluaba una reacción broncoespástica.

Los compuestos estudiados se administraron a los animales una vez al día todos los días durante 6 o 10 días; la administración se terminó dos días antes de la administración de la dosis de desafío de antígeno.

30 La reacción broncoespástica fue evaluada por un cambio en la tasa y la profundidad de los movimientos respiratorios y por el síntoma de asfixia tal como la caída a un lado. El espirograma fue registrado por el equipo de laboratorio experimental (ADInstruments, Australia), mediante el uso de una estación de registro de base (PowerLab 8sp.) y el software LabCart. El registro se llevó a cabo mediante el uso de sensores de flujo de aire para animales de laboratorio y un espirógrafo con un amplificador integrado (ADInstruments).

El lavado broncoalveolar (BAL) y la sangre de la cavidad cardiaca se derivaron de los animales 24 horas después de la administración de la dosis de desafío. El BAL se recogió bajo anestesia por medio del lavado de los pulmones con 5 ml de una solución salina fisiológica calentada a 37 °C a través de la tráquea, mediante el uso de un dispositivo de dosificación de jeringa.

- 5 El número absoluto de elementos celulares en 1 μ l del lavado (citosis) se contó en el lavado broncoalveolar, mediante el uso de la cámara Goryaev. A continuación, el BAL se centrifugó a 200 g durante 10 minutos. El residuo se utilizó para preparar hisopos que se fijaron en metanol y se tiñeron de acuerdo con Romanovsky-Giemsa para contar un citograma endopulmonar.

La sangre se analizó con un hemocitómetro para determinar la fórmula de leyko.

- 10 El estudio comprendió 3 experimentos, en los que el primero se dirigía a la evaluación del efecto de los compuestos reivindicados 1 de la fórmula (a) y los compuestos de referencia 2 a 6 en la composición de células del BAL, el segundo y el tercer experimento estaban destinados a evaluar el efecto del compuesto 1 de la fórmula (a) y el compuesto de referencia 2 en la composición de células del BAL, la composición de células de la sangre, y de la gravedad del broncoespasmo.
- 15 La administración diez veces de los compuestos 1 de la fórmula (a) y los compuestos de referencia 2 a 6 a conejillos de indias a una dosis de 14 mg/kg redujo el nivel de elementos celulares en el BAL de $17,3 \times 10^9$ células/L hasta $2,5$ a $6,3 \times 10^9$ células/L (véase la Tabla 4). Los compuestos estudiados resultaron con preferencia en una reducción del recuento de eosinófilos: en el grupo de control, el recuento de eosinófilos en el BAL fue de $7,05 \times 10^9$ células/L, y en el grupo que recibía el tratamiento, era de $0,60$ a $1,61 \times 10^9$ células/L, es decir, menos de 91 a 77%.

Tabla 4

Contenido de elementos celulares en el BAL en el modelo de asma bronquial en conejillos de indias (M ± m, n = 9)							
Grupo	Dosis de compuesto, mg/kg	Veces de administrac.	Citosis, 10 ⁹ /IT	Eosinófilos, 10 ⁹ /L	Neutrófilos, 10 ⁹ /L	Monocitos, 10 ⁹ /L	Linfocitos, 10 ⁹ /L
Intacto	-		1,0 ± 0,1	0,07 ± 0,01	0,16 ± 60,03	0,30 ± 0,05	0,38 ± 0,04
Control	-		17,3 ± 11,9*	7,05 ± 0,68*	1,78 ± 0,46	2,70 ± 0,59*	4,92 ± 1,02*
Compuesto 1			2,5 ± 0,5 &	0,89 ± 0,23*&	0,36 ± 0,09	0,35 ± 0,09*	0,70 ± 0,13*
Compuesto de referencia 2			6,3 ± 1,1*&	1,30 ± 0,29*&	1,05 ± 0,16*&	0,60 ± 0,14*	1,53 ± 0,50*
Compuesto de referencia 3			2,9 ± 0,4*&	0,93 ± 0,31*&	0,36 ± 0,08	0,71 ± 0,18 &	0,72 ± 0,08*
Compuesto de referencia 4	14	10	3,5 ± 1,1*&	1,25 ± 0,34*&	0,43 ± 0,12	0,85 ± 0,19 &	0,81 ± 0,11*
Compuesto de referencia 5			5,9 ± 1,5*&	1,61 ± 0,86*&	1,05 ± 0,33	0,84 ± 0,23*	1,35 ± 0,34*
Compuesto de referencia 6			4,96 ± 1,2*&	0,60 ± 0,21*&	0,97 ± 0,28*	0,83 ± 0,18*	1,03 ± 0,24*

Notas:

* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

& - Diferencia de la prueba t de Student con el grupo de control, p < 0,05

5 La administración de los compuestos estudiados a dosis más bajas (0,045, 0,14 y 1,4 mg/kg) y en dos regímenes (10 y 6 veces) mostró que los compuestos reducen la eosinofilia en el BAL dentro de una amplia gama de dosis (0,045 a 14 mg/kg) y en diversos esquemas de tratamiento (véase la Tabla 5). Además, los compuestos reducen el recuento de linfocitos en todas las dosis probadas, y el recuento de monocitos en el BAL también se redujo en algunas dosis, lo que es indicativo de la supresión de una reacción inflamatoria local en el pulmón.

Tabla 5

Contenido de elementos celulares en el BAL en el modelo de asma bronquial en conejillos de indias (M ± m, n = 8)							
Grupo	Dosis de compuesto, mg/kg	Veces de administración	Citosis, 10 ⁹ /L	Eosinófilos, 10 ⁹ /L	Neutrófilos, 10 ⁹ /L	Monocitos, 10 ⁹ /L	Linfocitos, 10 ⁹ /L
Experimento Núm. 1							
Intacto	-		0,22 ± 0,01	0,02 ± 0,002	0,06 ± 0,003	0,06 ± 0,006	0,075 ± 0,008
Control	-		19,3 ± 0,2*	0,96 ± 0,17*	0,18 ± 0,047*	0,54 ± 0,06*	0,24 ± 0,03*
Compuesto 1	0,045	10	12,8 ± 0,2*	0,45 ± 0,07*&	0,19 ± 0,08	0,52 ± 0,092*	0,10 ± 0,04 &
	0,14		10,5 ± 0,2*&	0,41 ± 0,10*&	0,07 ± 0,01	0,43 ± 0,076*	0,13 ± 0,04 &
	14		14,6 ± 0,3*	0,45 ± 0,12*&	0,15 ± 0,03*	0,7 ± 0,16*	0,15 ± 0,026 &*
Experimento Núm. 2							
Intacto	-		0,02 ± 0,003	0,02 ± 0,003	0,05 ± 0,007	0,05 ± 0,001	0,07 ± 0,01
Control	-		0,14 ± 0,02*	0,67 ± 0,07*	0,11 ± 0,003	0,49 ± 0,09*	0,16 ± 0,02*
Compuesto de referencia 2	0,14	6	0,55 ± 0,09*&	0,20 ± 0,03*&	0,03 ± 0,008 &*	0,24 ± 0,06*&	0,07 ± 0,02 &
	1,4		0,63 ± 0,09*&	0,18 ± 0,02*&	0,09 ± 0,002	0,29 ± 0,07*	0,06 ± 0,01 &
	14		0,56 ± 0,008 &*	0,21 ± 0,06*&	0,07 ± 0,002	0,22 ± 0,05*&	0,07 ± 0,009 &
Notas:							
* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05							
& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05							

Los compuestos estudiados redujeron la eosinofilia en la sangre. En el grupo de control, el recuento de eosinófilos en la sangre fue de 6 a 8 veces mayor que en los animales intactos. La administración de los compuestos estudiados permitió el resto del recuento en el nivel de los animales intactos (véase la Tabla 6).

Tabla 6

Contenido de elementos celulares en la sangre en el modelo de asma bronquial en conejillos de indias (M ± m, n = 8)									
Grupo	Dosis de compuesto, mg/kg	Veces de administración	Citosis, 10 ⁹ /L	Neutrófilos en banda, 10 ⁹ /L	Neutrófilos segmentados, 10 ⁹ /L	Eosinófilos, 10 ⁹ /L	Basófilos, 10 ⁹ /L	Monocitos, 10 ⁹ /L	Linfocitos, 10 ⁹ /L
Experimento Núm. 1									
Intacto	-		6,09 ± 0,68	0,08 ± 0,02	2,29 ± 0,35	0,08 ± 0,04	0 ± 0	0,10 ± 0,04	2,66 ± 0,49
Control	-		12,51 ± 0,68*	0,37 ± 0,11	3,92 ± 0,43	0,46 ± 0,06*	0 ± 0	0,58 ± 0,16*	7,45 ± 0,62*
Compuesto 1	0,045	10	9,03 ± 1,40 &	0,31 ± 0,10	2,92 ± 0,65	0,19 ± 0,04 &	0 ± 0	0,29 ± 0,08	4,80 ± 0,84*
	0,14		9,11 ± 1,07*&	0,19 ± 0,05 &	2,23 ± 0,58 &	0,09 ± 0,03 &	0 ± 0	0,33 ± 0,06*	5,25 ± 0,89*
	14		8,90 ± 0,25*&	0,27 ± 0,06*	3,66 ± 0,22*	0,13 ± 0,04 &	0 ± 0	0,33 ± 0,06*	4,45 ± 0,25*
Experimento Núm. 2									
Intacto			5,89 ± 0,31	0,14 ± 0,04	2,15 ± 0,26	0,05 ± 0,03	0 ± 0	0,15 ± 0,05	3,41 ± 0,32
Control			13,26 ± 0,55*	0,33 ± 0,11	5,34 ± 0,71*	0,39 ± 0,07*	0 ± 0	0,38 ± 0,09*	6,81 ± 0,49*
Compuesto de Referencia 2	0,14	6	7,80 ± 0,77*&	0,18 ± 0,04	3,41 ± 0,41*&	0,09 ± 0,03 &	0 ± 0	0,18 ± 0,06	3,95 ± 0,54 &
	1,4		7,70 ± 0,40*&	0,21 ± 0,03	3,53 ± 0,37*&	0,1 ± 0,03 &	0 ± 0	0,18 ± 0,06	3,68 ± 0,25 &
	14		6,93 ± 0,77 &	0,17 ± 0,04	2,9 ± 0,38 &	0,1 ± 0,04 &	0 ± 0	0,24 ± 0,08	3,51 ± 0,41 &
Notas:									
* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05									
& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05									

5 La evaluación de la gravedad del broncoespasmo en los conejillos de indias en respuesta a la inhalación de la dosis de desafío de ovoalbúmina demostró que en el modelo de asma bronquial, los compuestos estudiados redujeron no sólo la eosinofilia sino también manifestaciones clínicas de la enfermedad, En particular, en el grupo de control que recibió placebo, cinco de los ocho animales tenían broncoespasmo severo con la fase aguda y subaguda; dichos animales ya sea estaban ausentes en el grupo de animales que recibieron los compuestos estudiados o su número no fue más de dos animales, A su vez, el número de animales con la tasa normal y profundidad de la respiración (sin broncoespasmo) aumentó entre 0 y 1 en el grupo de control a 4 a 7 en los grupos que recibieron el tratamiento (véase la Tabla 7),

Tabla 7

Gravedad del broncoespasmo en el modelo de asma bronquial en conejillos de indias						
Grupo	Dosis de compuesto, mg/kg	Veces de administración	El número de animales (n = 8)			
			Sin broncoespasmo	Con broncoespasmo moderado (sin la fase aguda, con la fase subaguda, con control de la respiración)	Con broncoespasmo moderado (sin la fase aguda, con la fase subaguda, sin control de la respiración)	Con broncoespasmo grave (en la fase aguda y subaguda)
Experimento Núm. 1						
Intacto	-		8	0	0	0
Control	-		0	0	3	5
Compuesto 1	0,045	10	5	1	2	0
	0,14		7	1	0	0
	14		5	0	2	1
Experimento Núm. 2						
Intacto	-		8	0	0	0
Control	-		1	1	1	5
Compuesto de Referencia 2	0,14	6	4	1	1	2
	1,4		4	0	3	1
	14		5	1	0	2

Los resultados obtenidos dan evidencias fiables de que en los modelos experimentales de eosinofilia, en particular, del asma bronquial y similares, el compuesto reivindicado suprime la eosinofilia y reduce las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Ejemplo 5

5 Evaluación de la eficacia del compuesto de la fórmula (a) y los compuestos de referencia en un modelo de inflamación eosinofílica pulmonar inducida por Sephadex en ratas

10 El modelo de inflamación eosinofílica pulmonar inducida por Sephadex en ratas se llevó a cabo por medio de un procedimiento estándar [Evaldsson C, Rydén I, Uppugunduri S. *Isomaltitol exacerbates neutrophilia but reduces eosinophilia: new insights into the sephadex model of lung inflammation*//*Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 154(4):286 a 294]. Sephadex G-200 (Farmacia, Suecia) se administró una vez por medio de inhalación a ratas Wistar macho a una dosis de 5 mg/kg. Los compuestos estudiados se administraron a los animales por la vía intragástrica cuatro veces: 24 horas y 1 hora antes y 24 horas y 45 horas después de la administración de Sephadex. La preparación de referencia, budesonida, se administró de acuerdo con el mismo esquema, por inhalación a una dosis de 0,5 mg/kg. El lavado broncoalveolar fue tomado 48 horas después de la inhalación de Sephadex, y se determinaron el recuento total de linfocitos y la fórmula de leucocitos en el lavado. El número de ratas en un grupo fue de 7 a 10.

15 El análisis del BAL mostró que una administración de una vez de Sephadex G-200 por medio de inhalación provocó un flujo aparente de leucocitos en el pulmón. El contenido de todos los tipos de células aumentó en el grupo de control con relación a los animales intactos; sin embargo, el aumento máximo se registró para los eosinófilos (véanse las Tablas 8 y 9).

20 La administración intragástrica del compuesto de la fórmula (a) y los compuestos de referencia a las ratas redujo el recuento de eosinófilos en el BAL por varias veces. El compuesto reivindicado exhibió una actividad dentro de una amplia gama de las dosis probadas.

Tabla 8

Contenido de elementos celulares en el BAL en el modelo de inflamación eosinofílica pulmonar inducida por Sephadex en ratas (M ± m, n = 10)					
Grupo	Contenido de elementos celulares en 1 µl de BAL				
	Leucocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Macrófagos	Linfocitos
Intacto	865 ± 78	35 ± 9	13 ± 4	770 ± 66	46 ± 12
Control	2785 ± 152*	711 ± 158*	444 ± 45*	1469 ± 197*	161 ± 44*
Compuesto 1 (0,06 mg/kg)	2500 ± 307*	837 ± 231*	118 ± 27*&	1417 ± 131*	128 ± 48
Compuesto 1 (0,18 mg/kg)	2665 ± 455*	597 ± 168*	174 ± 64*&	1661 ± 260*	143 ± 54
Compuesto 1 (0,54 mg/kg)	2120 ± 218*&	352 ± 135*	126 ± 43*&	1446 ± 113*	196 ± 63*
Compuesto 1 (1,8 mg/kg)	1915 ± 250*&	451 ± 149*	129 ± 44*&	1214 ± 130*	122 ± 49
Compuesto 1 (5,4 mg/kg)	2340 ± 322*	492 ± 129*	152 ± 56*&	1525 ± 199*	170 ± 45*
Compuesto 1 (18 mg/kg)	2135 ± 205*&	297 ± 89*&	69 ± 22*&	1601 ± 134*	168 ± 44*
Budesonida (0,5 mg/kg)	1805 ± 318*&	334 ± 119*	204 ± 84*&	1230 ± 205	37 ± 10 &

Notas:

* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

Tabla 9

Contenido de elementos celulares en el BAL en el modelo de inflamación eosinofílica pulmonar inducida por Sephadex en ratas ($M \pm m$, $n = 7$)					
Grupo	Contenido de elementos celulares en 1 μ l de BAL				
	Leucocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Macrófagos	Linfocitos
Intacto	2471 \pm 611	150 \pm 63	39 \pm 31	1532 \pm 225	31 \pm 26
Control	5207 \pm 814*	785 \pm 163*	630 \pm 104*	3471 \pm 412*	275 \pm 103
Compuesto de Referen. 5 (1,8 mg/kg)	2064 \pm 257 &	385 \pm 57*	147, \pm 44 &	1576 \pm 93 &	66 \pm 26
Compuesto de Referencia 5 (18 mg/kg)	2189 \pm 222 &	605 \pm 124	34 \pm 15 &	1331 \pm 66 &	121 \pm 48
Compuesto de Referen. 7 (1,8 mg/kg)	2242 \pm 289 &	389 \pm 188	28 \pm 16 &	913 \pm 235 &	16 \pm 10
Compuesto de Referencia 7 (18 mg/kg)	1725 \pm 345 &	136, \pm 50 &	164, \pm 62 &	909 \pm 299 &	29 \pm 17
Compuesto de Referen. 8 (1,8 mg/kg)	2796 \pm 333 &	303 \pm 104 &	202 \pm 53*&	1860 \pm 204 &	82 \pm 44
Compuesto de Referencia 8 (18 mg/kg)	4250 \pm 576	583 \pm 180	318 \pm 65*&	2050 \pm 462 &	64 \pm 45

Notas:

* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, $p < 0,05$

& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, $p < 0,05$

Ejemplo 6

5 Evaluación de la eficacia del compuesto de la fórmula (a) y los compuestos de referencia en un modelo de inflamación eosinofílica pulmonar inducida por leucotrienos en conejillos de indias

El modelo de inflamación eosinofílica pulmonar inducida por leucotrienos en conejillos de indias se llevó a cabo por un procedimiento estándar [Underwood DC1, Osborn RR, SJ Newsholme, Torphy TJ, Hay DW. *Persistent airway eosinophilia after leukotriene (LT) D4 administration in the guinea pig: modulation by the LTD4 receptor antagonist, pranlukast, or an interleukin5 monoclonal antibody*// *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* Octubre de 1996; 154(4 Pt 1):850 a 857]. Una solución de leucotrieno D4 (LTD4, Cayman Chemical, EE.UU.) a una concentración de 10 mg/kg (una velocidad de flujo de 250 ml/hs) se inhaló a conejillos de indias macho (250 a 300 g) bajo condiciones de una doble cámara de pletismógrafo (Emka Technologies, Francia) durante un minuto. El compuesto estudiado se administró a los animales por vía intragástrica cuatro veces: 24 horas y 1 hora antes y 24 horas y 45 horas después de la inhalación de LTD4. La preparación de referencia, el montelukast (0,8 mg/kg), se administró una vez por la vía intragástrica una hora antes de la inhalación de LTD4. El lavado broncoalveolar fue tomado 48 horas después de la inhalación de LTD4, y se determinaron el recuento total de linfocitos y la fórmula de leucocitos en el lavado. El número de conejillos de indias en un grupo era de 8.

El análisis de BAL mostró que una administración de una vez de leucotrieno D4 a un conejillo de indias por medio de inhalación provocó un flujo aparente de neutrófilos, eosinófilos y monocitos/macrófagos a los pulmones. Se observó el aumento más evidente en el recuento de células (25 veces) para los eosinófilos (véase la Tabla 10).

La administración intragástrica del compuesto estudiado a los conejillos de indias redujo el recuento de eosinófilos en el BAL por 2,1 a 3,4 veces. Los compuestos tuvieron un efecto dentro de una amplia gama de dosis (0,14 a 14 mg/kg). El análisis comparativo de la eficacia del compuesto reivindicado y montelukast mostró que los efectos del compuesto reivindicado y el agonista de los receptores de leucotrienos fueron comparables por su resistencia.

25

Tabla 10

Contenido de elementos celulares en el BAL en el modelo de inflamación eosinofílica pulmonar inducida por leucotrienos en conejillos de indias (M ± M, n = 8)					
Grupo	Contenido de elementos celulares en 1 µl de BAL				
	Leucocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Macrófagos	Linfocitos
Intacto	556 ± 83	21 ± 4	79 ± 26	357 ± 55	100 ± 32
Control	5788 ± 1269*	303 ± 66*	1966 ± 391*	3392 ± 895*	126 ± 35
Compuesto 1 (0,14 mg/kg)	2638 ± 463*&	249 ± 50	916 ± 144*&	1360 ± 323*	112 ± 27
Compuesto 1 (1,4 mg/kg)	3413 ± 1022*	279 ± 97*	856 ± 288*&	2134 ± 705*	144 ± 89
Compuesto 1 (14 mg/kg)	2250 ± 373*&	155 ± 36*	580 ± 124*&	1444 ± 258*	71 ± 28
Montelukast (0,8 mg/kg)	24065 ± 415*&	173 ± 41*	618 ± 116*&	1519 ± 263*	96 ± 39

Notas:

* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

Ejemplo 7

Evaluación de la eficacia del compuesto de la fórmula (a) y los compuestos de referencia en un modelo de rinitis alérgica en conejillos de indias

5

El modelo de rinitis alérgica en conejillos de indias se llevó a cabo por medio de un procedimiento estándar [Vishnu N. Thakare, M.M. Osama, Suresh R. Naik. *Therapeutic potential of curcumin in experimentally induced allergic rhinitis in guinea pigs // Int Immunopharmacol.* Septiembre de 2013; 17(1):18 a 25].

10

Los conejillos de indias (de 250 a 300 g) se inmunizaron 4 veces (en los días 0, 7, 14, y 21) con la administración intragástrica de ovoalbúmina (100 µg/conejillo) e hidróxido de aluminio (5 mg/conejillo), ambos de los cuales estaban diluidos y suspendidos en una solución salina fisiológica. En el día 28 del estudio, se administró una solución de ovoalbúmina (60 mg/ml) por vía intranasal a cada fosa nasal de los animales a una dosis de 20 µl. En el día 35, los animales recibieron por vía subcutánea una solución de ovoalbúmina (200 µg/ml, 25 µl); la espalda de cada animal se afeitó previamente en el sitio de administración. La hinchazón y el enrojecimiento en el sitio de la inyección sirven como soporte de la sensibilización. En el día 42 del estudio, se administró una solución de ovoalbúmina (60 mg/ml, 20 µl/fosa nasal) por vía intranasal. Se formó un grupo de animales pseudoimmunizados para controlar la formación de la inflamación alérgica exactamente: en los días 0, 7, 14, y 21, los conejillos recibieron una solución de hidróxido de aluminio (5 mg/conejillo), y en los días 28 y 35, recibieron una solución salina fisiológica, y el día 42, una solución de ovoalbúmina (60 mg/ml, 20 µl/fosa nasal).

15

20

Los compuestos estudiados (14 mg/kg) se administraron 3 veces por vía intragástrica: 48, 24 y 1 horas antes de la última administración de ovoalbúmina. La preparación de referencia, dexametasona, se administró una vez por vía intragástrica, 3 horas antes de la última administración intranasal de ovoalbúmina.

25

Las manifestaciones clínicas, tales como el número de estornudos y rascados de nariz, se registraron durante 2 horas después de la última administración de ovoalbúmina. El lavado nasal fue tomado 24 horas después de la última administración de ovoalbúmina, y en este lavado, se determinó el recuento total de linfocitos y la fórmula de leucocitos. El número de conejillos de indias en un grupo era de 8.

El análisis del lavado nasal mostró que la rinitis alérgica es acompañada por un flujo aparente de leucocitos en la cavidad nasal. El aumento máximo se registró para los eosinófilos (Tabla 11).

30

La administración tres veces del compuesto de la fórmula (a) a los conejillos de indias redujo el recuento de eosinófilos en el lavado nasal con el nivel observado en los animales pseudoimmunizados. Los efectos del compuesto reivindicado y dexametasona fueron comparables por su resistencia.

Tabla 11

Contenido de elementos celulares en el lavado nasal en conejillos de indias en el modelo de rinitis alérgica (M ± m, n = 8)					
Grupo	Contenido de elementos celulares en 1 µl de lavado nasal				
	Leucocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Macrófagos	Linfocitos
Pseudoinmunización	1371 ± 181	424 ± 30	267 ± 38	712 ± 125	8 ± 6
Control	3029 ± 286*	753 ± 121*	1265 ± 226*	439 ± 132	8 ± 8
Compuesto 1 (14 mg/kg)	1300 ± 254 &	243 ± 58*&	521 ± 129 &	405 ± 130	6 ± 6
Compuesto de Referen. 5 (14 mg/kg)	1071 ± 233 &	344 ± 50 &	575 ± 143 &	198 ± 54*	9 ± 7
Dexametasona (5 mg/kg)	1186 ± 142 &	328 ± 47 &	365. ± 90 &	296 ± 71*	5 ± 3

Notas:

* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

- 5 El registro de las manifestaciones clínicas de la rinitis alérgica durante 2 horas después de la última administración intranasal de ovoalbúmina mostró un aumento aparente en el número de estornudos y rascados de nariz en los animales experimentales, lo que era indicativo de la corrección del modelo llevado a cabo de la rinitis alérgica. La terapia con el compuesto de la fórmula (a) redujo las manifestaciones clínicas de la rinitis a su nivel observado en los animales pseudoinmunizados. La preparación de referencia tuvo un efecto similar (véase la Tabla 12).

Tabla 12

Manifestaciones clínicas de rinitis alérgica en conejillos de indias en el modelo experimental (M ± m, n = 8)		
Grupo	Número de estornudos/2 horas	Número de rascados de nariz/2 horas
Pseudoinmunización	5,3 ± 1,2	9,7 ± 1,3
Control	16,3 ± 2,6*	45,3 ± 5,2*
Compuesto 1 (14 mg/kg)	5,9 ± 1,1 &	13,9 ± 2,6 &
Compuesto de Referencia 5 (14 mg/kg)	7,1 ± 1,3 &	19,1 ± 4,9 &
Dexametasona (5 mg/kg)	7,9 ± 0,8 &	16,7 ± 1,8*&

Notas:

* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05

10 Ejemplo 8

Evaluación de la eficacia de los compuestos de la fórmula (a) y los compuestos de referencia en un modelo de dermatitis atópica en ratones

El modelo de dermatitis atópica se llevó a cabo por medio de un procedimiento estándar [*Mechanism of dinitrochlorobenzene-induced dermatitis in mice: role of specific antibodies in pathogenesis//PLoS ONE*. 2009; 4(11)].

- 15 En los días 0 y 12 del estudio, 100 µl de una solución al 2% de 1-cloro-2,4-dinitrobenzenceno (DNCB, Sigma-Aldrich, EE.UU.) en etanol al 95% se aplicó a los sitios afeitados en las espaldas de los ratones Balb/c machos. En el día 17 del estudio, a la oreja derecha "estudiada" de los animales, se aplicaron 20 µl de la solución de alcohol de 2% de DNCB dos veces con un intervalo de una hora. El compuesto estudiado y la preparación de referencia, dexametasona, se administraron por vía intragástrica una vez al día en los días 8 a 17 del estudio.

En el día 18 del estudio, los animales fueron sacrificados en una cámara de CO₂. Se midieron los pesos de las orejas "estudiadas" y las "de control". Se calculó un índice de respuesta (RI) expresado en porcentaje de una diferencia en los pesos de las orejas "estudiadas" y las "de control".

5 El estudio mostró que el compuesto de la fórmula (a) redujo el índice de respuesta en el modelo experimental de dermatitis atópica. Los efectos del compuesto reivindicado y de la preparación de esteroides, dexametasona, fueron comparables por su resistencia (véase la Tabla 13).

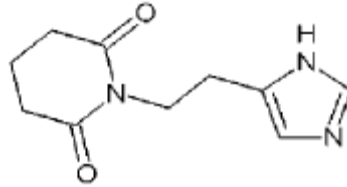
Tabla 13

Índice de respuesta en la dermatitis atópica en ratones (M ± m, n = 12)	
Grupo	Índice de respuesta (%)
Intacto	-0,49 ± 0,68
Control	93,8 ± 5,4*
Compuesto 1 (0,3 mg/kg)	74,4 ± 7,3*&
Compuesto 1 (3 mg/kg)	69,5 ± 8,2*&
Compuesto 1 (30 mg/kg)	69,1 ± 8*&
Dexametasona (10 mg/kg)	65,6 ± 8*&
Notas:	
* - Diferencia con el grupo intacto, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05	
& - Diferencia con el grupo de control, de acuerdo con la prueba t de Student, p < 0,05	

10 Los resultados obtenidos dan motivos para una conclusión de que en los modelos experimentales de eosinofilia, en particular la inflamación eosinofílica pulmonar inducida por Sephadex en ratas, inflamación eosinofílica pulmonar inducida por leucotrienos en conejillos de indias, la rinitis alérgica y el asma en conejillos de indias, la dermatitis atópica en ratones, y similares, el compuesto de la fórmula (a) reduce la eosinofilia de manera significativa.

REIVINDICACIONES

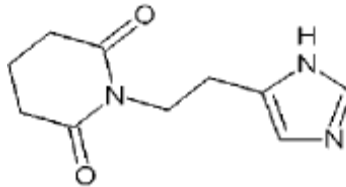
1. Un compuesto para su uso en el tratamiento de enfermedades eosinofílicas, el compuesto está representado por la fórmula (a):



- 5 o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo,

en el que las enfermedades eosinofílicas son el asma bronquial, la rinitis alérgica, las rinosinusopatías poliposas, la colitis eosinofílica, el síndrome eosinofílico, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, el síndrome de Churg-Strauss, el choque anafiláctico, el edema de Quincke, la vasculitis eosinofílica, la esofagitis eosinofílica, la gastroenteritis eosinofílica o la fibrosis.

- 10 2. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de enfermedades eosinofílicas, la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (a):



o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo;

y un vehículo aceptable para uso farmacéutico,

- 15 en el que las enfermedades eosinofílicas son el asma bronquial, la rinitis alérgica, las rinosinusopatías poliposas, la colitis eosinofílica, el síndrome eosinofílico, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, el síndrome de Churg-Strauss, el choque anafiláctico, el edema de Quincke, la vasculitis eosinofílica, la esofagitis eosinofílica, la gastroenteritis eosinofílica o la fibrosis.