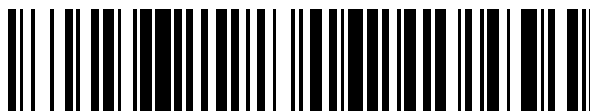


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 761 173**

51 Int. Cl.:

A01N 37/02 (2006.01)
C07C 49/255 (2006.01)
C07C 69/738 (2006.01)
C07C 225/22 (2006.01)
C07C 235/78 (2006.01)
C07C 237/20 (2006.01)
C07D 231/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.05.2010 PCT/US2010/034971**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.11.2010 WO10132815**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2010 E 10775624 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3206488**

54 Título: **Análogos de curcumina como quelantes de zinc y sus usos**

30 Prioridad:

15.05.2009 US 216392 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.05.2020

73 Titular/es:

**THE RESEARCH FOUNDATION OF STATE
UNIVERSITY OF NEW YORK (50.0%)
35 State Street
Albany, NY 12201-0009, US y
CHEM-MASTER INTERNATIONAL, INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**JOHNSON, FRANCIS y
GOLUB, LORNE**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 761 173 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

Análogos de curcumina como quelantes de zinc y sus usos

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense n.º 61/216.392, presentada el 15 de mayo de 2009.

Antecedentes de la invención

- 10 Durante décadas, poco después de que se descubriera la primera de las metaloproteinasas de la matriz (MMP), conocida como colagenasa-1 o MMP-1, a principios de la década de 1960 (1), los académicos y la industria han estado intentando desarrollar productos farmacéuticos seguros y eficaces para inhibir estas proteinasas neutras dependientes de calcio y zinc que se expresan y activan en niveles excesivos durante una variedad de enfermedades (véanse (2) y (3) para revisiones). El fundamento de esta estrategia de desarrollo de medicamentos radica en el hecho de que el colágeno y los otros constituyentes del tejido conjuntivo: (a) se degradan de manera colaborativa por estas MMP (que suman ahora más de 25 tipos genéticamente distintos, "22 encontrados en el genoma humano" (2)); y (b) se encuentran prácticamente en todas partes del cuerpo (por ejemplo, piel, huesos, tendones y ligamentos, córnea del ojo, cartílago de las articulaciones), y la destrucción excesiva de estos constituyentes es un evento clave en la patogénesis de numerosas enfermedades que van desde afecciones inflamatorias (por ejemplo, artritis reumatoide, aterosclerosis, periodontitis) hasta enfermedades óseas metabólicas (por ejemplo, osteoporosis posmenopáusica, osteopenia inducida por diabetes), invasión de cáncer, metástasis y angiogénesis (2, 4).

- 25 Las metaloproteinasas de la matriz (MMP) son un colectivo de más de treinta endopeptidasas que contienen zinc que incluyen las gelatinasas, estromelisin y colagenasas, liberadas como zimógenos inactivos y que se activan solo cuando el propéptido se escinde (5). Las gelatinasas incluyen MMP-2 y MMP-9, y las estromelisin incluyen MMP-3, 7, 10 y 11. Las colagenasas incluyen MMP-1, 8 y 13 (5). Las MMP, cuando se expresan o inducen constitutivamente por agentes proinflamatorios, tales como citocinas, hormonas, productos bacterianos, endotoxinas, entre otros, pueden degradar todos los componentes de la matriz extracelular (5). En condiciones fisiológicas, las MMP están reguladas por inhibidores endógenos, particularmente los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP) (5, 6a).

- 30 La actividad y expresión aberrantes de MMP se ha implicado en varias afecciones patológicas, incluyendo artritis reumatoide (RA), osteoartritis (OA), metástasis, enfermedad periodontal, angiogénesis, enfisema, esclerosis múltiple (5) y enfermedad cardiovascular, tal como aterosclerosis, infarto de miocardio, reestenosis arterial tras angioplastia y desarrollo de aneurisma (6a). Investigaciones recientes también han implicado a las MMP en ataques de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y envejecimiento prematuro de la piel (6a) y enfermedad inflamatoria de la piel (6b, 6c). También se ha notificado su implicación en la ruta de activación del receptor de factor de crecimiento epidérmico que conduce a hipertrofia cardíaca (6a). Se cree que un desequilibrio entre las enzimas activas y sus inhibidores naturales conduce a la destrucción acelerada del tejido conjuntivo y el potencial para usar inhibidores enzimáticos específicos como agentes terapéuticos para reparar este equilibrio ha conducido a una investigación intensiva centrada en el diseño, la síntesis y el descifrado molecular de inhibidores de baja masa molecular de esta familia de proteínas (7). Al menos 56 inhibidores de MMP se han promovido como candidatos clínicos desde fines de la década de 1970 y, a fecha de 2006, solo se ha aprobado un inhibidor, una formulación de doxiciclina subantimicrobiana (baja dosis) (Periostat® para enfermedad periodontal) (8). Estudios clínicos tempranos con otros inhibidores de MMP conocidos, en particular una serie de ácidos hidroxámicos, han revelado un efecto secundario adverso grave que se conoce frecuentemente como síndrome musculoesquelético (MSS), que es una fibromialgia similar a tendinitis (8). En ensayos clínicos posteriores con inhibidores de MMP, los esfuerzos para evitar el MSS junto con la incapacidad de evaluar el índice terapéutico (es decir, la razón entre la dosis requerida para la eficacia frente a la toxicología), pueden haber dado como resultado una selección de dosis por debajo de la dosis eficaz mínima, lo que dificulta el desarrollo de inhibidores de MMP (8).

- 50 Por tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevos inhibidores de MMP.

- La curcumina (diferuloilmetano, figura 1), el componente principal de la cúrcuma, es un polifenol antioxidante de la planta *Curcuma longa* y se usa comúnmente como componente de especias. La curcumina se ha usado para tratar la inflamación y ejerce efectos antiproliferativos y proapoptóticos contra diversos tumores *in vitro* e *in vivo*, y se ha encontrado que suprime la carcinogénesis de la mama y otros órganos (9, 10). Bachmeier y colaboradores han notificado una regulación por disminución de las citocinas inflamatorias CXCL1 y CXCL2 en células de cáncer de mama por medio de NFκB (9). La eficacia de curcumina oral *in vivo* se ha demostrado en modelos para muchos estados con daño oxidativo e inflamación, incluyendo muchos tipos de cáncer, diabetes, aterosclerosis, artritis, accidente cerebrovascular, neuropatía periférica, enfermedad inflamatoria intestinal y traumatismo cerebral (11). Se ha demostrado que la curcumina, junto con su derivado de tetrahidro, tetrahidrocurcumina (THC, fig. 1), inhibe IL-1β en un modelo de inflamación cerebral aguda, mientras que la curcumina fue más efectiva que el THC en la atenuación de la patogénesis de placas en estudios de eficacia de la curcumina en modelos de neuroinflamación, que está implicada en la patogénesis de muchos trastornos neurodegenerativos, incluyendo la enfermedad de Alzheimer (AD) (11).

- 65

La curcumina también se ha demostrado que inhibe las MMP. Se ha observado que la curcumina (a una concentración de 15 μM) ejerce un efecto inhibitor significativo sobre la actividad de MMP-2 que no era reversible incluso después de que las células se hicieran crecer durante 28 días sin curcumina (12). Se sabe que células altamente metastásicas se vuelven menos agresivas cuando se reduce la expresión o actividad de MMP-2 y estudios previos también han demostrado que la curcumina reduce la expresión de MMP-2 en líneas celulares de carcinoma de mama (12). Esta reducción de la actividad de MMP-2 podría ser un motivo importante para la propiedad antimetastásica de la curcumina (12). Además, también se ha demostrado que la curcumina inhibe la expresión de MMP-9 en células de astroglioma humano (13). Se han descrito análogos y derivados de la curcumina previamente para su uso contra diversos cánceres (14, 15, 16, 17) así como pancreatitis (18).

Aunque se ha demostrado que la curcumina tiene múltiples efectos beneficiosos, la mala absorción oral de la curcumina tanto en seres humanos como en animales ha generado varias preocupaciones de que esto pueda limitar su impacto clínico (11).

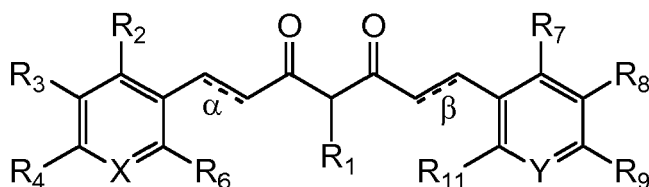
En el presente documento, se dan a conocer curcuminas modificadas químicamente novedosas como inhibidores de metaloproteinasas de la matriz y la producción de citocinas proinflamatorias.

Heng (documento US 2001/051184 A1) da a conocer un método para usar derivados de curcumina solubles para inhibir la fosforilasa cinasa en enfermedades inflamatorias, pero no da a conocer los análogos de curcumina de la presente invención para su uso en la inhibición de lo siguiente: la actividad y/o los niveles de una metaloproteinasas de la matriz (MMP); la producción de una citocina en una población de células; la producción de un factor de crecimiento en una población de células; y la activación de NF κ -B en una población de células.

Vander Jagt *et al.* (documento US 2007/060644 A1) da a conocer análogos de curcumina y métodos para el tratamiento de enfermedades, pero no da a conocer los análogos de curcumina de la presente invención para su uso en la inhibición de lo siguiente: la actividad y/o los niveles de una metaloproteinasas de la matriz (MMP); la producción de una citocina en una población de células; la producción de un factor de crecimiento en una población de células; y la activación de NF κ -B en una población de células.

Sumario de la invención

Esta invención proporciona un compuesto que tiene la estructura



en la que

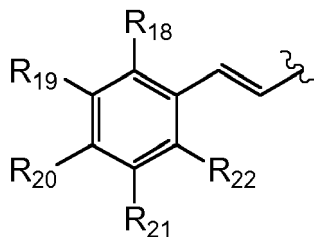
el enlace α y β están cada uno, independientemente, presentes o ausentes;

X es CR₅ o N; Y es CR₁₀ o N;

R₁ es -C(O)R₁₄, -C(S)R₁₄ o C(=NH)R₁₄,

en los que

R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o

heterociclilo;

5 R_{18} , R_{19} , R_{21} , y R_{22} son cada uno independientemente H, halógeno, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}_{23}\text{R}_{24}$, $-\text{SR}_{23}$, $-\text{SO}_2\text{R}_{23}$, $-\text{CO}_2\text{R}_{23}$, $-\text{OR}_{25}$, CF_3 , $-\text{SOR}_{23}$, $-\text{POR}_{23}$, $-\text{C}(=\text{S})\text{R}_{23}$, $-\text{C}(=\text{NH})\text{R}_{23}$, $-\text{C}(=\text{NR}_{24})\text{R}_{23}$, $-\text{C}(=\text{N})\text{R}_{23}$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}_{23})(\text{OR}_{24})$, $-\text{P}(\text{OR}_{23})(\text{OR}_{24})$, $-\text{C}(=\text{S})\text{R}_{23}$, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R_{23} , R_{24} y R_{25} son cada uno, independientemente, H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo, heteroarilo o heterociclilo;

10 R_{20} es halógeno, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}_{26}\text{R}_{27}$, CF_3 , alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R_{26} y R_{27} son cada uno, independientemente, H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo, heteroarilo o heterociclilo;

15 R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son cada uno independientemente, H, halógeno, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}_{28}\text{R}_{29}$, $-\text{NHR}_{28}\text{R}_{29}^+$, $-\text{SR}_{28}$, $-\text{SO}_2\text{R}_{28}$, $-\text{OR}_{28}$, $-\text{COR}_{28}$, CF_3 , alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo, heteroarilo o heterociclilo;

20 en los que R_{28} y R_{29} son cada uno H, CF_3 , alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} o $-\text{C}(=\text{O})$ -heterociclilo; y

25 en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido con halógeno, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, fenoxilo, benciloxilo, p-trifluorometilbenciloxilo, trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, nitro, nitrosilo, mercapto, metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, ciano, amino, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino o carboxilo;

o una sal del mismo.

30 Esta invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto anterior y un portador farmacéuticamente aceptable.

Esta invención también proporciona el compuesto anterior para su uso en la inhibición de la actividad y/o los niveles de una metaloproteinasas de la matriz (MMP).

35 Esta invención proporciona además el compuesto anterior para su uso en la inhibición de la producción de una citocina en una población de células de mamífero.

40 Esta invención proporciona aun adicionalmente el compuesto anterior para su uso en la inhibición de la producción de un factor de crecimiento en una población de células de mamífero.

Esta invención proporciona el compuesto anterior para su uso en la inhibición de la activación de NF κ -B en una población de células.

45 **Breve descripción de las figuras**

Figura 1. Estructuras químicas de curcumina, tetrahydrocurcumina (THC) y 1,10-O-fenantrolina.

50 Figura 2. Niveles de citocinas en medios condicionados (CM) de monocitos: Efecto el compuesto 1.

Figura 3. Desarrollo del modelo de rata de diabetes tipo 1. Cambios en el peso corporal: control frente a diabetes el día 21. Diferencial del 16% observado a las 3 semanas.

55 Figura 4. Niveles de glucosa en sangre el día 21: control frente a diabetes.

Figura 5. Una comparación de la potencia inhibidora de MMP-8 (CI_{50}) de varios compuestos de curcumina y 1,10-fenantrolina.

60 Figura 6. Una comparación de la potencia inhibidora de MMP-9 (CI_{50}) de varias curcuminas modificadas químicamente y 1,10-fenantrolina.

Figura 7. Efecto del compuesto 1 sobre la glucosa sanguínea y MMP. La diabetes aumenta MMP-2 y MMP-9 en plasma de rata. * "Baja dosis" refleja una baja concentración sérica ($\sim 0,1 \mu\text{g/ml}$) y una corta duración (1 semana de tratamiento); NDC = control no diabético (n=4 ratas/grupo); UD = diabético no tratado (n=6 ratas/grupo); D + compuesto 1 = diabético tratado con compuesto 1 (n=6 ratas/grupo).

65

Figura 8. Niveles de MMP-8, evaluados mediante inmunotransferencias de tipo Western, en extracto de piel de rata parcialmente purificado.

5 Figura 9. El efecto de la diabetes y compuesto 1 administrado por vía oral sobre (A) glucosa sanguínea y (B) niveles de hemoglobina A1c.

Figura 10. El efecto de la diabetes y la administración oral de compuesto 1 sobre los niveles de gelatinasa en la encía, evaluado mediante zimografía de gelatina. Cada valor representa un conjunto de tejido gingival de 3 ratas/grupo experimental.

10 Figura 11. El efecto de la diabetes y la administración oral de compuesto 1 sobre los niveles de IL-1 β mediante ELISA.

Figura 12. La diabetes aumenta los niveles de MMP-2 (formas pro y activa) en la piel de ratas, en comparación con los niveles de MMP-2 en la piel de ratas de control no diabéticas, evaluadas mediante zimografía de gelatina.

15 Figura 13. El efecto de la administración oral de compuesto 1 sobre la pérdida de hueso alveolar (periodontal) en ratas diabéticas tipo I hiperglucémicas. Cada valor representa la puntuación de pérdida ósea media \pm el error estándar de la media (E.E.M.)

20 Figura 14. Efecto de inhibidores de MMP sobre la liberación de LDH inducida por H₂O₂ (100 μ M, 6 h) en miocitos ventriculares de rata neonatal (n=4).

Figura 15. Efecto de inhibidores de MMP sobre la liberación de LDH inducida por H₂O₂ (100 μ M, 24 h) en miocitos ventriculares de rata neonatal (n=4).

25 Figura 16. Efecto de inhibidores de MMP sobre la actividad de caspasa-3 inducida por doxorubicina (0,5 μ M, 6 h) en miocitos ventriculares de rata neonatal (n=4).

Figura 17. Efecto de inhibidores de MMP sobre la actividad de caspasa-3 inducida por doxorubicina (0,5 μ M, 24 h) en miocitos ventriculares de rata neonatal (n=4).

Figura 18. Análisis de la liberación de ³⁵SO₄⁻ tras el tratamiento con derivados de curcumina (24 h).

Figura 19. Análisis de la liberación de ³⁵SO₄⁻ tras el tratamiento con derivados de curcumina (48 h).

35 Figura 20. Análisis de la liberación de ³⁵SO₄⁻ tras el tratamiento con derivados de curcumina (72 h).

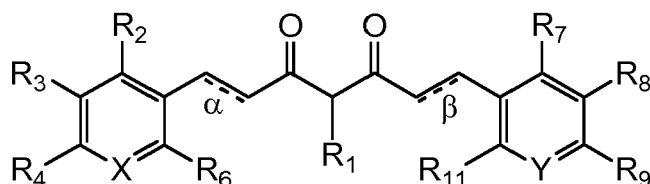
Figura 21. Liberación de ³⁵SO₄⁻ total tras el tratamiento con derivados de curcumina (24 h de pretratamiento + 24 h de tratamiento).

40 Figura 22. Liberación de ³⁵SO₄⁻ media tras el tratamiento con derivados de curcumina (24 h de pretratamiento + 24 h de tratamiento).

45 Figura 23-25. Zimografía de gelatina (en presencia de Ca⁺⁺ 2 o 10 mM) e inmunotransferencia de tipo Western (ambos ensayos usaron MMP-9 purificada, gelatinasa de 92 kDa, como patrón). Las concentraciones de 10 μ M y 20 μ M de compuesto 1 inhibieron la producción y/o actividad de MMP-9 generada por las células de cáncer de próstata humano.

Descripción detallada de la invención

50 Esta invención proporciona un compuesto que tiene la estructura

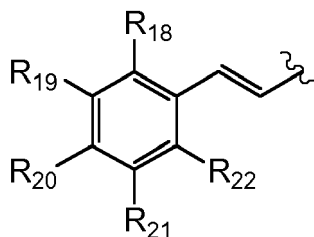


55 en la que

el enlace α y β están cada uno, independientemente, presentes o ausentes; X es CR₅ o N; Y es CR₁₀ o N;

R₁ es -C(OR)₁₄, -C(S)R₁₄ o -C(=NH)R₁₄,

60 en los que R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenoilo C₂₋₁₀, alquinoilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, -SOR₂₃, -POR₂₃, -C(=S)R₂₃, -C(=NH)R₂₃, -C(=NR₂₄)R₂₃, -C(=N)R₂₃, -P(=O)(OR₂₃)(OR₂₄), -P(OR₂₃)(OR₂₄), -C(=S)R₂₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente, H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo; y

en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀ o -C(=O)-heterociclilo;

y en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido con halógeno, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, fenoxilo, benciloxilo, p-trifluorometilbenciloxilo, trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, nitro, nitrosilo, mercapto, metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, ciano, amino, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino o carboxilo;

o una sal del mismo.

También se da a conocer en el presente documento, cuando R₁ es H, R₃, R₄, R₅, R₈, R₉ o R₁₀ es -NO₂, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀; o una sal del mismo.

También se da a conocer en el presente documento, cuando R₁ es H, R₄ o R₉ es -NO₂, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺; o una sal del mismo.

También se da a conocer en el presente documento, cuando R₁ es H, R₄ o R₉ es -NR₂₈R₂₉ o -NHR₂₈R₂₉⁺; o una sal del mismo.

En una realización,

R₁ es -COR₁₄,

en el que R₁₄ es metoxilo o -NH-fenilo;

R₂, R₅, R₆, R₇, R₁₀ y R₁₁ son cada uno H;

R₃, R₄, R₈, y R₉ son cada uno, independientemente H, -OH, -OCH₃, -N(CH₃)₂ o -NH(CH₃)₂⁺;

o una sal del mismo.

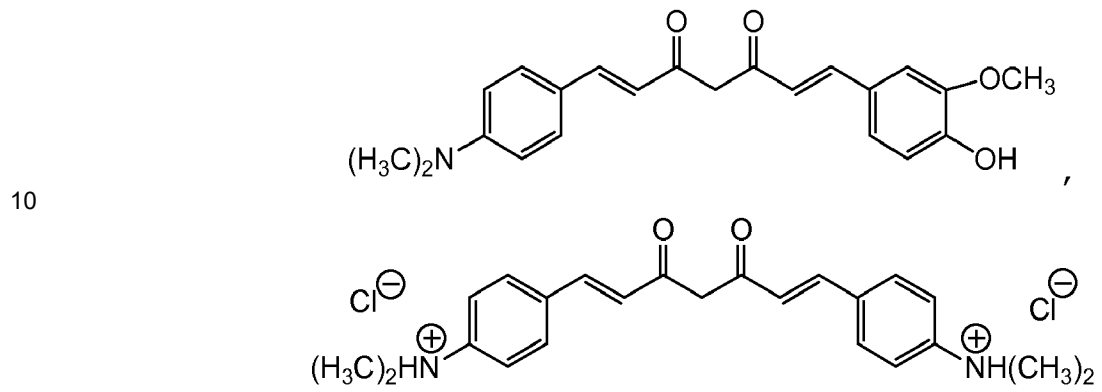
También se da a conocer en el presente documento, R₁ es H;

R₂, R₅, R₆, R₇, R₁₀ y R₁₁ son cada uno H;

R₃, R₄, R₈ y R₉ son cada uno, independientemente, H, -OH, -OCH₃, -N(CH₃)₂ o -NH(CH₃)₂⁺;

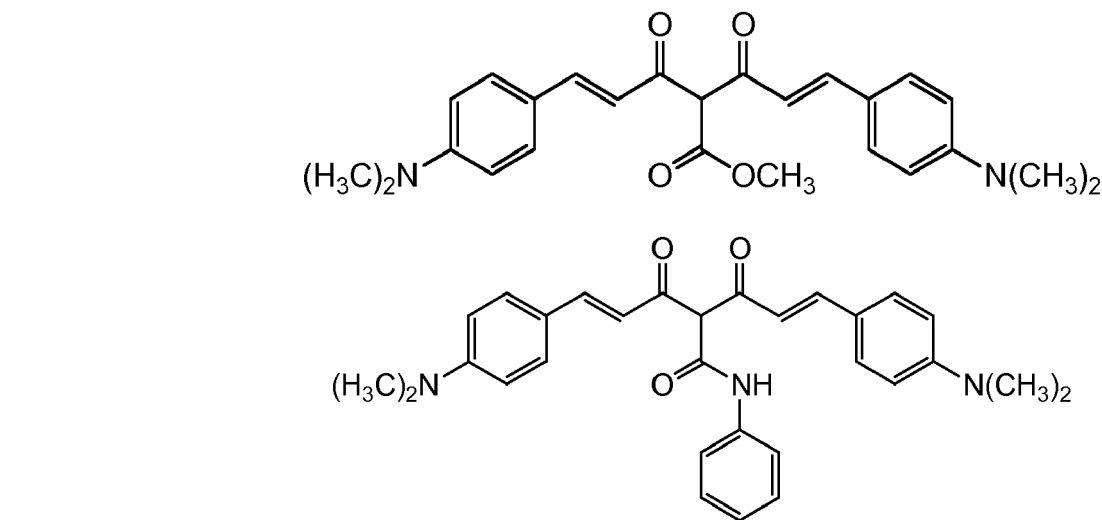
5 o una sal del mismo.

También se da a conocer en el presente documento, el compuesto tiene la estructura



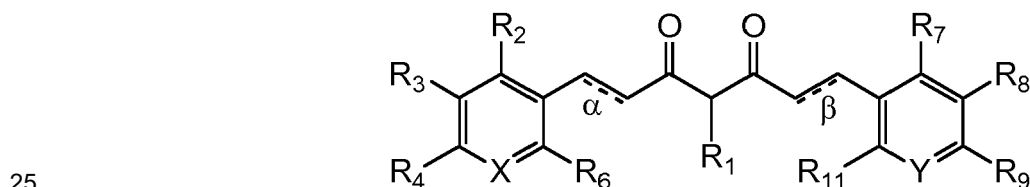
o una sal del mismo.

15 En una realización, el compuesto tiene la estructura



o una sal del mismo.

También se da a conocer en el presente documento, un compuesto que tiene la estructura



en la que

30 el enlace α y β están cada uno, independientemente, presentes o ausentes;

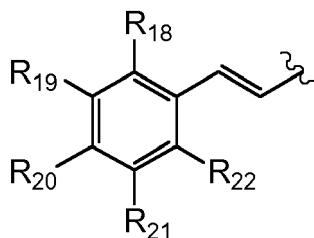
X es CR₅ o N; Y es CR₁₀ o N;

R₁ es H, CF₃, halógeno, -NO₂, -OCF₃, -OR₁₂, -NHCOR₁₂, -SR₁₂, -SO₂R₁₃, -COR₁₄, -CSR₁₄, -CNR₁₄, -C(=NR₁₂)R₁₄,

-C(=NH)R₁₄, -SOR₁₂, -POR₁₂, -P(=O)(OR₁₂)(OR₁₃) o -P(OR₁₂)(OR₁₃),

en los que R₁₂ y R₁₃ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

5 R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇ o



10 en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

15 R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, -SOR₂₃, -POR₂₃, -C(=S)R₂₃, -C(=NH)R₂₃, -C(=NR₂₄)R₂₃, -P(=O)(OR₂₃)(OR₂₄), -P(OR₂₃)(OR₂₄), -C(=S)R₂₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

20 en los que R₂₃, R₂₄, y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

25 en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente, H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -COR₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

30 en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀ o -C(=O)-heterociclilo; y

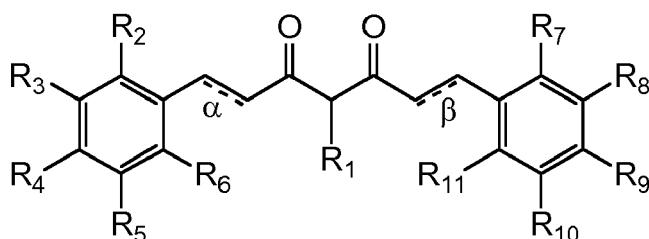
en la que cuando R₁ es H, R₃, R₄, R₅, R₈, R₉ o R₁₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

35 en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀ o -C(=O)-heterociclilo;

y en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido;

40 o una sal del mismo.

También se da a conocer en el presente documento, el compuesto tiene la estructura



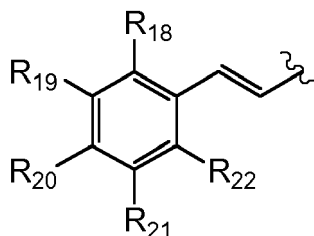
45 en la que

el enlace α y β están cada uno, independientemente, presentes o ausentes;

50 R₁ es CF₃, halógeno, -NO₂, -OCF₃, -OR₁₂, -NHCOR₁₂, -SR₁₂, -SO₂R₁₃, -COR₁₄, -CSR₁₄ o -CNR₁₄,

en los que R₁₂ y R₁₃ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

5 R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



10 en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

15 R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

20 R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

25 R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -COR₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

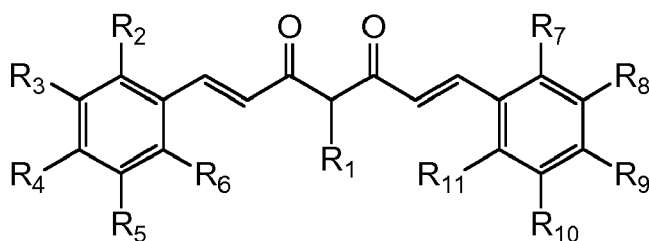
en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀;

30 y en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido;

y en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

35 o una sal del mismo.

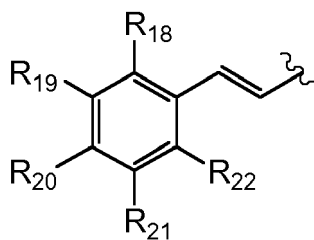
También se da a conocer en el presente documento, el compuesto tiene la estructura



40 en la que R₁ es CF₃, halógeno, -NO₂, -OCF₃, -OR₁₂, -NHCOR₁₂, -SR₁₂, -SO₂R₁₃, -COR₁₄, -CSR₁₄ o -CNR₁₄,

45 en los que R₁₂ y R₁₃ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

5 R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

10 R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

15 R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

20 R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente, H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -COR₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

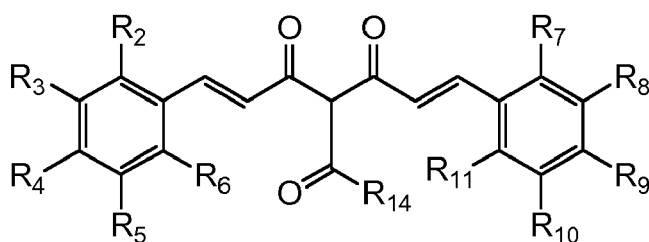
en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀;

25 y en la que cada parición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido;

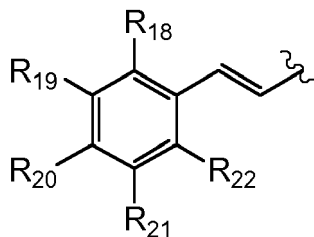
y en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁, son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

30 o una sal del mismo.

En otra realización, el compuesto tiene la estructura



35 en la que R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



40 en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

5 en los que R₂₃, R₂₄, y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

10 en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

15 R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente, H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

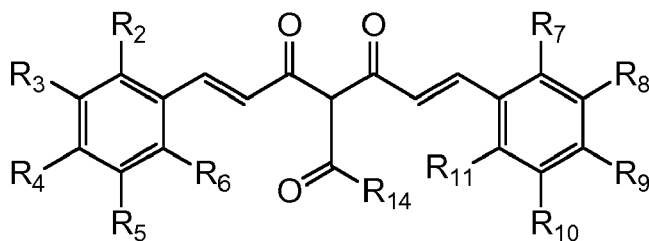
en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀;

20 y en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido con halógeno, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, fenoxilo, benciloxilo, p-trifluorometilbenciloxilo, trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, nitro, nitrosilo, mercapto, metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, ciano, amino, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino o carboxilo;

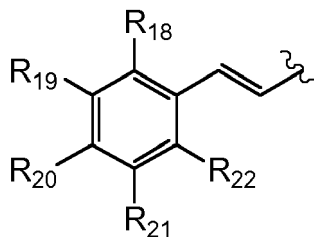
25 y en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

o una sal del mismo.

30 En aún otra realización, el compuesto tiene la estructura



35 en la que R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

40 R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

45 en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

50 R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

5 R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente, H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -COR₂₈, CF₃;

en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₅, alqueno C₂₋₅ o alquino C₂₋₅;

10 y en la que cada aparición de alquilo, alqueno o alquino está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido con halógeno, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, fenoxilo, benciloxilo, p-trifluorometilbenciloxilo, trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, nitro, nitrosilo, mercapto, metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, ciano, amino, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino o carboxilo;

15 y en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₈, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

o una sal del mismo.

20 En una realización,

R₁₄ es metoxilo, -OR₁₅ o -NR₁₆R₁₇,

25 en el que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀ o alquino C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

30 o una sal del mismo.

En otra realización del compuesto, R₁₄ es metoxilo o -NR₁₆R₁₇,

35 en el que R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

o una sal del mismo.

En una realización, R₁₄ es -OR₁₅, en el que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀ o alquino C₂₋₁₀; o una sal del mismo.

40 En una realización, R₁₄ es -NR₁₆R₁₇,

en el que R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H o arilo;

45 R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₈, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente H, -NR₂₈R₂₉ o -OR₂₈,

en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H o alquilo C₁₋₁₀;

o una sal del mismo.

50 En una realización,

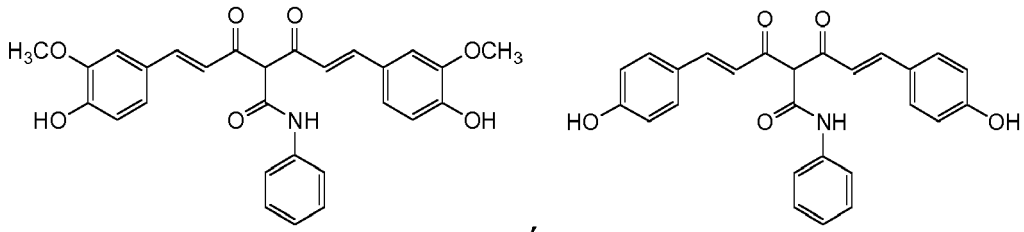
R₁₄ es -NH-fenilo;

55 R₂, R₅, R₆, R₇, R₁₀ y R₁₁ son cada uno H;

R₃, R₄, R₈ y R₉ son cada uno, independientemente, H, -OH o -OCH₃;

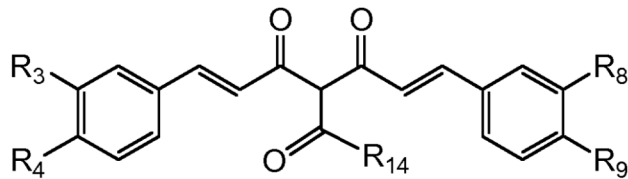
o una sal del mismo.

60 En otra realización, el compuesto tiene la estructura



o una sal del mismo.

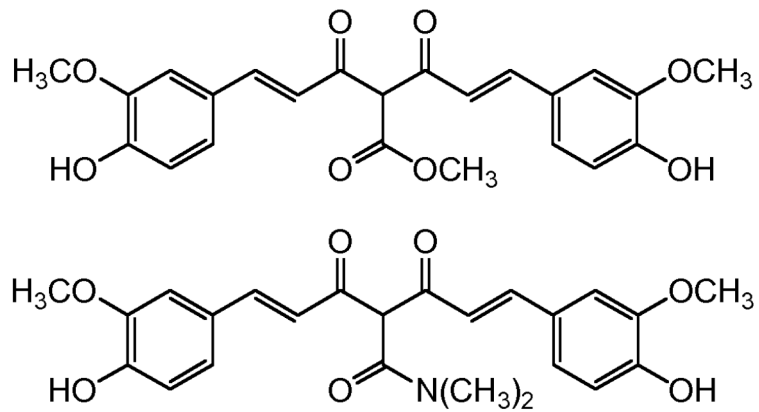
5 En una realización, el compuesto tiene la estructura



en la que R₃, R₄, R₈ y R₉ son H, -OCH₃ u -OH; R₁₄ es metoxilo o -N(CH₃)₂; o una sal del mismo.

10

En otra realización, el compuesto tiene la estructura



15

o una sal del mismo.

En una realización,

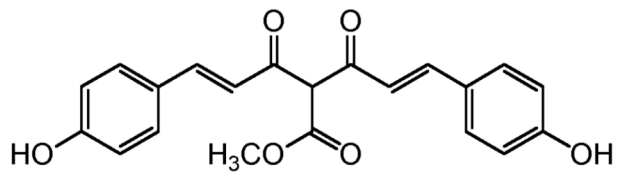
20

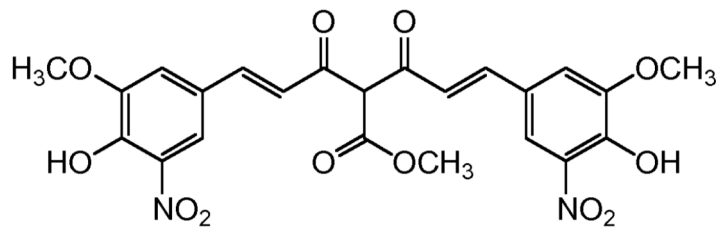
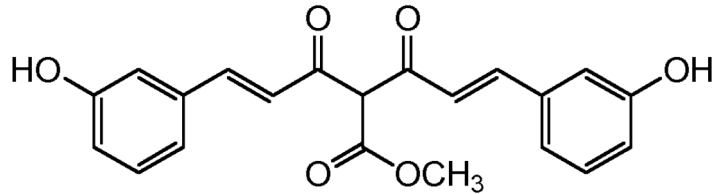
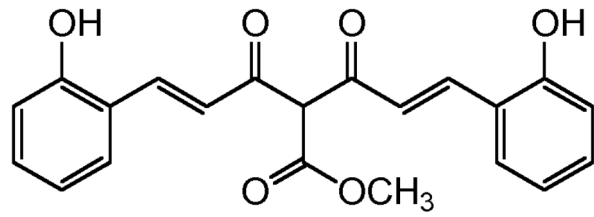
R₁₄ es metoxilo;

R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, H, -OH, -OCH₃, -NO₂ o -CO₂CH₃; o una sal del mismo.

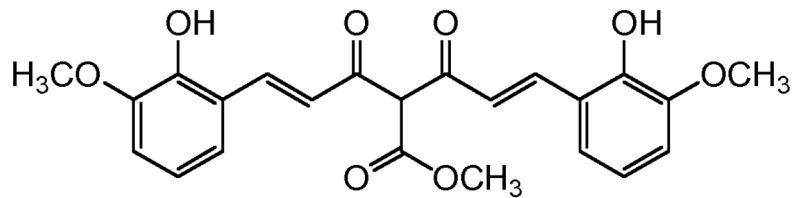
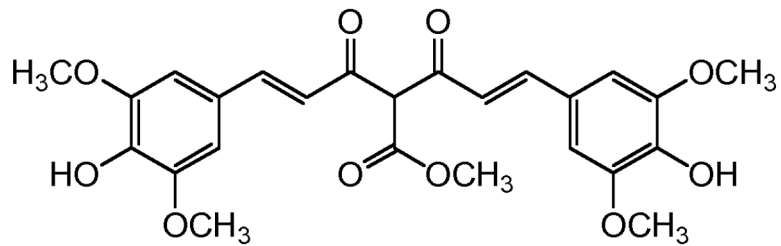
25

En otra realización, el compuesto tiene la estructura

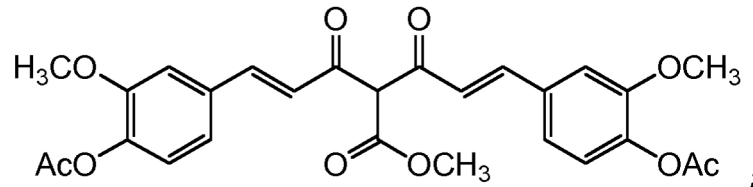




5



10

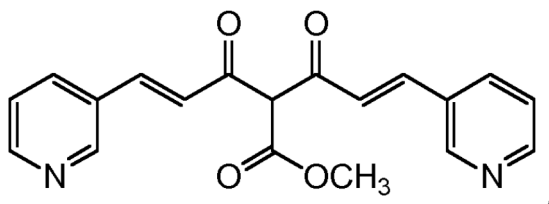


o una sal del mismo.

15 En otra realización, X es N; o una sal del mismo.

En una realización, α y β están ambos presentes; o una sal del mismo.

20 En otra realización, el compuesto tiene la estructura:



o una sal del mismo.

5 Esta invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y de los compuestos anteriores.

Esta invención también proporciona los compuestos anteriores para su uso en la inhibición de la actividad y/o los niveles de una metaloproteinasa de la matriz (MMP).

10 En realizaciones adicionales descritas pero no reivindicadas, la metaloproteinasa de la matriz es MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12, MMP-13 o MMP-14.

15 Esta invención proporciona además el compuesto anterior para su uso en la inhibición de la producción de una citocina en una población de células de mamífero.

En realizaciones adicionales descritas pero no reivindicadas, la población de células es una población de células humanas.

20 En realizaciones adicionales descritas pero no reivindicadas, la citocina es TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IL-8 o IL-6.

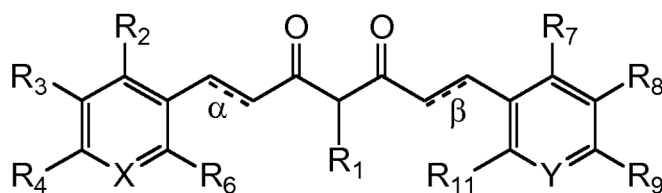
En realizaciones adicionales descritas pero no reivindicadas, la producción de una citocina se induce por una endotoxina, lipopolisacárido (LPS), una hormona, un complejo de colesterol o un mediador inflamatorio, incluyendo pero sin limitarse a óxido nítrico, y especies reactivas de oxígeno.

25 Esta invención proporciona aún además el compuesto anterior para su uso en la inhibición de la producción de un factor de crecimiento en una población de células de mamífero.

En realizaciones adicionales descritas pero no reivindicadas, el factor de crecimiento es VEGF, PDGF, TGF- β o MIP1 α .

30 Esta invención proporciona el compuesto anterior para su uso en la inhibición de la activación de NF κ -B en una población de células.

35 También se da a conocer en el presente documento un método de aumento de la solubilidad en agua, capacidad de unión a metales, actividad de inhibición de MMP, actividad de inhibición de citocinas, actividad de inhibición de factores de crecimiento o actividad de inhibición de la activación de NF κ B de curcumina que comprende sintetizar un compuesto que tiene la estructura



40 en la que

el enlace α y β están cada uno, independientemente, presentes o ausentes;

45 X es CR₅ o N; Y es CR₁₀ o N;

R₁ es H o un grupo atractor de electrones;

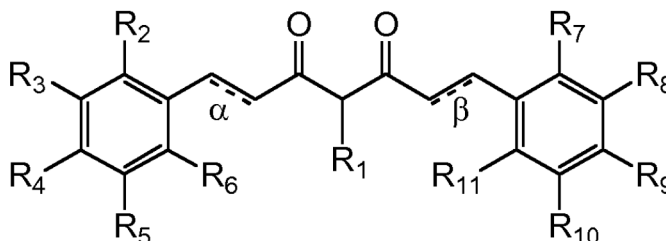
50 R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -COR₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo; en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀ o -C(=O)-heterociclilo; y

en la que cuando R₁ es H, R₃, R₄, R₅, R₈, R₉ o R₁₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀ o -C(=O)-heterociclilo; y

en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido; o una sal del mismo.

También se da a conocer en el presente documento, el compuesto sintetizado tiene la estructura



en la que

el enlace α y β están cada uno, independientemente, presentes o ausentes;

R₁ es un grupo atractor de electrones;

R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente, H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

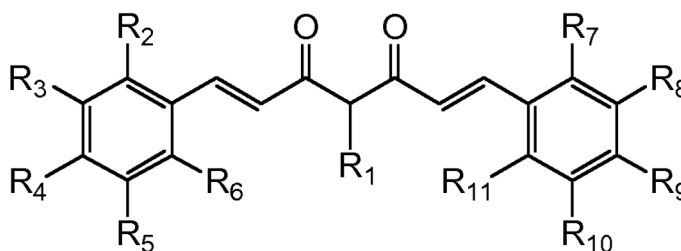
en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀; y

en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido; y

en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

o una sal del mismo.

También dado a conocer en el presente documento, el compuesto sintetizado tiene la estructura



en la que

R₁ es un grupo atractor de electrones;

R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente, H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

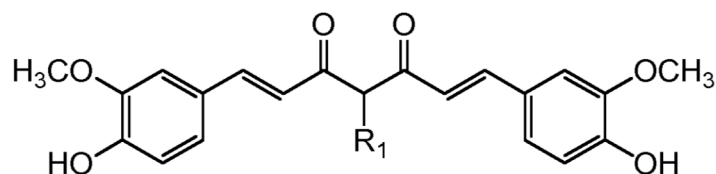
en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀; y

en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido; y

en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

o una sal del mismo.

También dado a conocer en el presente documento, el compuesto sintetizado tiene la estructura



5

en la que R_1 es un grupo atractor de electrones.

10

Se entiende que las estructuras descritas en las realizaciones de los usos descritos anteriormente en el presente documento pueden ser las mismas que las estructuras de los compuestos descritos anteriormente en el presente documento.

15

20

Tal como se usa en el presente documento, el término “actividad” se refiere a la activación, producción, expresión, síntesis, efecto intercelular y/o efecto patológico o aberrante de la molécula a la que se hace referencia, o bien dentro y/o bien fuera de una célula. Tales moléculas incluyen, pero no se limitan a, citocinas, enzimas, factores de crecimiento, pro-factores de crecimiento, factores de crecimiento activos y proenzimas. Moléculas tales como citocinas, enzimas, factores de crecimiento, pro-factores de crecimiento, factores de crecimiento activos y proenzimas pueden producirse, expresarse o sintetizarse dentro de una célula en donde pueden ejercer un efecto. Tales moléculas también pueden transportarse fuera de la célula a la matriz extracelular donde pueden inducir un efecto sobre la matriz extracelular o sobre una célula vecina. Se entiende que la activación de citocinas, enzimas y proenzimas inactivas puede producirse dentro y/o fuera de una célula y pueden estar presentes tanto formas inactivas como activas en cualquier punto dentro y/o fuera de una célula. También se entiende que las células pueden presentar niveles basales de tales moléculas para su función normal y que niveles anómalamente altos o bajos de tales moléculas activas pueden conducir a efectos patológicos o aberrantes que pueden corregirse mediante intervención farmacológica.

25

30

El término “citocina” tal como se usa en el presente documento se refiere a una molécula de señalización celular, que incluye, pero no se limita a, una linfocina, una monocina, una quimiocina, un interferón, una interleucina o una hormona. Los ejemplos de una monocina incluyen, pero no se limitan a, $TNF-\alpha$ y $TNF-\beta$. Los ejemplos de una quimiocina incluyen, pero no se limitan a, MCP-1, MCP-2 y MCP-3. Los ejemplos de un interferón incluyen, pero no se limitan a, $IFN-\alpha$, $IFN-\beta$ e $IFN-\gamma$. Los ejemplos de una interleucina incluyen, pero no se limitan a, IL-1 α , IL1- β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 e IL-12.

35

El término “factor de crecimiento” tal como se usa en el presente documento se refiere a una proteína que se une a receptores sobre la superficie celular, con la función primaria de regular la proliferación y/o diferenciación celulares. Los ejemplos de un factor de crecimiento incluyen, pero no se limitan a, G-CSF, GM-CSF, MIP1 α , MIP1 β , TGF- α , TGF- β , VEGF y PDGF.

40

45

Los compuestos de la presente invención incluyen todos los hidratos, solvatos y complejos de los compuestos usados por esta invención. Si está presente un centro quiral u otra forma de un centro isomérico en un compuesto de la presente invención, todas las formas de tal isómero o isómeros, incluyendo enantiómeros y diastereómeros, pretenden cubrirse en el presente documento. Pueden usarse compuestos que contienen un centro quiral como mezcla racémica, una mezcla enriquecida enantioméricamente o la mezcla racémica puede separarse usando técnicas bien conocidas y un enantiómero individual puede usarse solo. Los compuestos descritos en la presente invención están en forma racémica o como enantiómeros individuales. Los enantiómeros pueden separarse usando técnicas conocidas, tales como las descritas en Pure and Applied Chemistry 69, 1469-1474, (1997) IUPAC. En casos en los que los compuestos tienen dobles enlaces carbono-carbono insaturados, tanto los isómeros cis (Z) como trans (E) están dentro del alcance de esta invención.

50

Los compuestos la presente invención pueden tener formas tautoméricas espontáneas. En casos en los que los compuestos pueden existir en formas tautoméricas, tales como tautómeros de ceto-enol, cada forma tautomérica se contempla como incluida dentro de esta invención ya exista en equilibrio o predominantemente en una forma.

55

En las estructuras de compuestos representadas en el presente documento, no se muestran los átomos de hidrógeno para átomos de carbono que tienen menos de cuatro enlaces con átomos distintos de hidrógeno. Sin embargo, se entiende que existen átomos de hidrógeno suficientes en dichos átomos de carbono para satisfacer la regla del octeto.

60

Tal como se usa en el presente documento, “alquilo” incluye grupos hidrocarburo alifáticos saturados tanto ramificados como de cadena lineal que tienen el número especificado de átomos de carbono y pueden estar no sustituidos o sustituidos. Por tanto, C_1-C_n como en “alquilo C_1-C_n ” se define que incluye grupos que tienen 1, 2, ..., n-1 o n carbonos en una disposición lineal o ramificada. Por ejemplo, C_1-C_6 , como en “alquilo C_1-C_6 ” se define que incluye grupos que tienen 1, 2, 3, 4, 5 o 6 carbonos en una disposición lineal o ramificada, e incluye específicamente metilo, etilo, n-

propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, pentilo, hexilo y octilo.

Tal como se usa en el presente documento, "alquenilo" se refiere a un radical hidrocarburo no aromático, lineal o ramificado, que contiene al menos 1 doble enlace carbono a carbono, y pueden estar presentes hasta el número máximo posible de dobles enlaces carbono-carbono no aromáticos, y puede estar no sustituido o sustituido. Por ejemplo, "alquenilo C₂-C₆" significa un radical alquenilo que tiene 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono, y hasta 1, 2, 3, 4 o 5 dobles enlaces carbono-carbono respectivamente. Los grupos alquenilo incluyen etenilo, propenilo, butenilo y ciclohexenilo.

El término "alquinilo" se refiere a un radical hidrocarburo lineal o ramificado, que contiene al menos 1 triple enlace carbono a carbono, y pueden estar presentes hasta el número máximo posible de triples enlaces carbono-carbono no aromáticos, y puede estar no sustituido o sustituido. Por tanto, "alquinilo C₂-C₆" significa un radical alquinilo que tiene 2 o 3 átomos de carbono y 1 triple enlace carbono-carbono, o que tiene 4 o 5 átomos de carbono y hasta 2 triples enlaces carbono-carbono, o que tiene 6 átomos de carbono y hasta 3 triples enlaces carbono-carbono. Los grupos alquinilo incluyen etinilo, propinilo y butinilo.

"Alquilenilo", "alquenilenilo" y "alquinilenilo" significarán, respectivamente, un radical alcano, alqueno y alquino divalente, respectivamente. Se entiende que un alquilenilo, alquenilenilo y alquinilenilo puede ser lineal o ramificado. Un alquilenilo, alquenilenilo y alquinilenilo puede estar no sustituido o sustituido.

Tal como se usa en el presente documento, "arilo" pretende significar cualquier anillo de carbono monocíclico, bicíclico o policíclico estable de hasta 10 átomos en cada anillo, en el que al menos un anillo es aromático, y puede estar no sustituido o sustituido. Los ejemplos de tales elementos de arilo incluyen fenilo, p-toluenilo (4-metilfenilo), naftilo, tetrahidro-naftilo, indanilo, bifenilo, fenantrilo, antrilo o acenaftilo. En casos en los que el sustituyente de arilo es bicíclico y un anillo no es aromático, se entiende que la unión es por medio del anillo aromático. Cuando un grupo arilo es policíclico, al menos 2 anillos aromáticos están adyacentes, es decir comparten un lado. Por ejemplo, los grupos arilo policíclicos no incluyen restos que contengan una estructura de tetraciclina.

Además, el uso del término "policíclico" no se limita a grupos arilo. El término "policíclico" tal como se usa en el presente documento puede referirse también a estructuras de anillos condensados múltiples insaturados o parcialmente insaturados. Sin embargo, el término "policíclico" tal como se usa en el presente documento en cualquier contexto excluye la estructura de tetraciclina.

El término "arilalquilo" se refiere a grupos alquilo tal como se describieron anteriormente en los que uno o más enlaces a hidrógeno contenidos en los mismos se reemplazan por un enlace a un grupo arilo tal como se describió anteriormente. Se entiende que un grupo "arilalquilo" está conectado a una molécula central a través de un enlace desde el grupo alquilo y que el grupo arilo actúa como sustituyente en el grupo alquilo. Los ejemplos de restos arilalquilo incluyen, pero no se limitan a, bencilo (fenilmetilo), p-trifluorometilbencilo (4-trifluorometilfenilmetilo), 1-feniletilo, 2-feniletilo, 3-fenilpropilo, 2-fenilpropilo y similares.

El término "heteroarilo", tal como se usa en el presente documento, representa un anillo monocíclico, bicíclico o policíclico estable de hasta 10 átomos en cada anillo, en el que al menos un anillo es aromático y contiene desde 1 hasta 4 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. Los grupos heteroarilo aromáticos bicíclicos incluyen anillos de fenilo, piridina, pirimidina o piridizina que están (a) fusionados a un anillo heterocíclico aromático (insaturado) de 6 miembros que tiene un átomo de nitrógeno; (b) fusionados a un anillo heterocíclico aromático (insaturado) de 5 o 6 miembros que tiene dos átomos de nitrógeno; (c) fusionados a un anillo heterocíclico aromático (insaturado) de 5 miembros que tiene un átomo de nitrógeno junto con o bien un átomo de oxígeno o bien uno de azufre; o (d) fusionados a un anillo heterocíclico aromático (insaturado) de 5 miembros que tiene un heteroátomo seleccionado de O, N o S. Los grupos heteroarilo dentro del alcance de esta definición incluyen pero no se limitan a: benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzofurazanilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, carbazolilo, carbolinilo, cinolinilo, furanilo, indolinilo, indolilo, indolazínilo, indazolilo, isobenzofuranilo, isoindolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, naftpiridinilo, oxadiazolilo, oxazolilo, oxazolina, isoxazolina, oxetanilo, piranilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridopiridinilo, piridazinilo, piridilo, pirimidilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolilo, quinoxalinilo, tetrazolilo, tetrazolopiridilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo, azetidínilo, aziridinilo, 1,4-dioxanilo, hexahidroazepínilo, dihidrobenzoimidazolilo, dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzotiofenilo, dihidrobenzoxazolilo, dihidrofuranilo, dihidroimidazolilo, dihidroindolilo, dihidroisooxazolilo, dihidroisotiazolilo, dihidrooxadiazolilo, dihidrooxazolilo, dihidropirazinilo, dihidropirazolilo, dihidropiridinilo, dihidropirimidínilo, dihidropiridinilo, dihidroquinolínilo, dihidrotetrazolilo, dihidrotiazolilo, dihidrotienilo, dihidrotriazolilo, dihidroazetidínilo, metilendioxi-benzoílo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, acridínilo, carbazolilo, cinolinilo, quinoxalinilo, pirrazolilo, indolilo, benzotriazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, furanilo, tienilo, benzotienilo, benzofuranilo, quinolinilo, isoquinolinilo, oxazolilo, isoxazolilo, indolilo, pirazinilo, piridazinilo, piridinilo, pirimidínilo, pirrolilo, tetrahidroquinolina. En casos en los que el sustituyente de heteroarilo es bicíclico y un anillo no es aromático o no contiene heteroátomos, se entiende que la unión es por medio del anillo aromático o por medio del anillo que contiene heteroátomos, respectivamente. Si el heteroarilo contiene átomos de nitrógeno, se entiende que los N-óxidos correspondientes del mismo se abarcan también por esta definición.

El término "heterociclo" o "heterociclilo" se refiere a un sistema de anillos mono o policíclico que puede estar saturado o contiene uno o más grados de insaturación y contiene uno o más heteroátomos. Los heteroátomos preferidos incluyen N, O y/o S, incluyendo N-óxidos, óxidos de azufre y dióxidos. El anillo tiene de tres a diez miembros y o bien está saturado o bien tiene uno o más grados de insaturación. El heterociclo puede estar no sustituido o sustituido, permitiéndose múltiples grados de sustitución. Tales anillos pueden fusionarse opcionalmente a uno o más de otro(s) anillo(s) "heterocíclico(s)", anillo(s) de heteroarilo, anillo(s) de arilo o anillo(s) de cicloalquilo. Los ejemplos de heterociclos incluyen, pero no se limitan a, tetrahidrofurano, pirano, 1,4-dioxano, 1,3-dioxano, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, tiomorfolina, tetrahidrotiopirano, tetrahidrotiofeno, 1,3-oxatiolano y similares.

Los sustituyentes de alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar sustituidos o no sustituidos, a menos que se defina específicamente lo contrario.

En los compuestos de la presente invención, los grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo pueden sustituirse adicionalmente reemplazando uno o más átomos de hidrógeno con grupos alternativos distintos de hidrógeno. Estos incluyen, pero no se limitan a, halo, hidroxilo, mercapto, amino, carboxilo, ciano y carbamoilo.

Tal como se usa en el presente documento, el término "halógeno" se refiere a F, Cl, Br e I.

El término "sustituido" se refiere a un grupo funcional tal como se describió anteriormente en el que uno o más enlaces a un átomo de hidrógeno contenido en el mismo se reemplazan por un enlace a átomos distintos de hidrógeno o distintos de carbono, siempre que se mantengan las valencias normales y que la sustitución dé como resultado un compuesto estable. Los grupos sustituidos también incluyen grupos en los que uno o más enlaces a un átomo de carbono o hidrógeno se reemplazan por uno o más enlaces, incluyendo dobles o triples enlaces, a un heteroátomo. Los ejemplos de sustituyentes incluyen los grupos funcionales descritos anteriormente y, en particular, halógenos (es decir, F, Cl, Br e I); grupos alquilo, tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo y trifluorometilo; hidroxilo; grupos alcoxilo, tales como metoxilo, etoxilo, n-propoxilo e isopropoxilo; grupos ariloxilo, tales como fenoxilo; arilalquiloxilo, tal como benciloxilo (fenilmetoxilo) y p-trifluorometilbenciloxilo (4-trifluorometilfenilmetoxilo); grupos heteroariloxilo; grupos sulfonilo, tales como trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo y p-toluenosulfonilo; nitro, nitrosilo; mercapto; grupos sulfanilo, tales como metilsulfanilo, etilsulfanilo y propilsulfanilo; ciano; grupos amino, tales como amino, metilamino, dimetilamino, etilamino y dietilamino; y carboxilo. Cuando se dan a conocer o reivindican múltiples restos sustituyentes, el compuesto sustituido puede estar sustituido independientemente por uno o más de los restos sustituyentes dados a conocer o reivindicados, de manera individual o plural. Por sustituido independientemente, quiere decirse que los (dos o más) sustituyentes pueden ser iguales o diferentes.

Se entiende que los sustituyentes y los patrones de sustitución en los compuestos de la presente invención puede seleccionarlos un experto habitual en la técnica para proporcionar compuestos que son químicamente estables y que pueden sintetizarse fácilmente mediante técnicas conocidas en la técnica, así como aquellos usos expuestos a continuación, a partir de materiales de partida fácilmente disponibles. Si un sustituyente está por sí mismo sustituido con más de un grupo, se entiende que estos grupos múltiples pueden estar en el mismo carbono o en diferentes carbonos, siempre que resulte una estructura estable.

Tal como se usa en el presente documento, las abreviaturas se definen de la siguiente manera:

ADN = ácido desoxirribonucleico

ARN = ácido ribonucleico

IL = interleucina

MCP = proteína quimioatrayente de monocitos

TNF = factor de necrosis tumoral

VEGF = factor de crecimiento endotelial vascular

MMP = metaloproteínasa de la matriz

LPS = lipopolisacárido

HPLC = cromatografía de líquidos de alta resolución

DLAR = División de recursos de animales de laboratorio

Al elegir los compuestos de la presente invención, un experto habitual en la técnica reconocerá que los diversos sustituyentes, es decir, R₁, R₂, etc. deben elegirse de conformidad con principios bien conocidos de conectividad de estructuras químicas.

Los diversos grupos R unidos a los anillos aromáticos de los compuestos dados a conocer en el presente documento pueden añadirse a los anillos mediante procedimientos convencionales, por ejemplo, los expuestos en *Advanced Organic Chemistry: Part B: Reaction and Synthesis*, Francis Carey y Richard Sundberg, (Springer) 5ª ed. Edición. (2007).

Aunque se ha sabido que la curcumina se une a iones metálicos tales como los de cobre, hierro y zinc, se ha demostrado que la afinidad por el zinc es débil (19).

En la invención objeto, la actividad biológica mejorada de la curcumina y sus análogos se atribuye en parte a su capacidad para acceder y unirse a iones de zinc y una solubilidad mejorada. Esta invención describe que la mejora de la afinidad de unión al zinc mediante la instalación de grupos atractores de electrones y donadores de electrones en ubicaciones estratégicas, concretamente, el carbono C-4 y los anillos de arilo, en el esqueleto de curcumina y da como resultado la mejora de la actividad biológica, incluyendo la inhibición de la actividad de MMP, la activación de NFκB y la producción de citocinas.

Sin desear limitarse a la teoría, se cree que la afinidad de unión al zinc surge de una estabilidad aumentada del enolato de curcumina formado por la eliminación de hidrógeno del carbono C-4, que luego forma un complejo con zinc. La estabilidad de un carbanión, incluyendo un enolato, está directamente relacionada con la acidez del hidrógeno ionizable, tal como un hidrógeno enólico. En general, la estabilidad de un enolato aumenta con el aumento de la acidez del hidrógeno enólico. En el presente documento, el hidrógeno enólico se refiere al átomo de hidrógeno conectado al carbono C-4 del esqueleto de curcumina.

La acidez del hidrógeno enólico de la curcumina y sus análogos puede mejorarse mediante la incorporación de un grupo atractor de electrones en el carbono C-4. Sustituyentes que deslocalizan la carga negativa mejorarán la acidez y la estabilidad del carbanión resultante, tal como un enolato. Una vez más, sin querer limitarse a la teoría, se cree que el grupo atractor de electrones permite que la carga negativa del enolato se deslocalice en el grupo atractor de electrones, estabilizando de ese modo el enolato, mejorando su estabilidad y aumentando su afinidad de unión al zinc.

Las características electrónicas de los anillos de arilo de la curcumina también son relevantes para mejorar la afinidad de unión al zinc y la actividad biológica. Aunque no se requiera, los grupos donadores de electrones en las porciones de arilo del esqueleto de curcumina parecen mejorar su actividad. La incorporación de tales grupos donadores de electrones en los anillos de arilo puede afectar a uno o más factores, incluyendo la mejora de la solubilidad en agua y la mejora de las interacciones de catión-pi. Sin desear limitarse a la teoría, se cree que la instalación de grupos donadores de electrones en los anillos de arilo, junto con la elección del grupo atractor de electrones de C-4, aumenta la polarización de electrones dentro de la molécula de manera que las fuerzas dipolo-dipolo intermoleculares con las moléculas de agua circundantes se mejora, aumentando de ese modo la solubilidad en agua. Los grupos donadores de electrones también pueden aumentar la solubilidad en agua mejorando las interacciones de enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua circundantes. Además, con respecto a las interacciones de catión-pi, se cree que los grupos donadores de electrones aumentan la densidad de electrones en los anillos de arilo, mejorando de ese modo la capacidad de los arilos para reconocer y/o unirse a cationes o proteínas que contienen cationes.

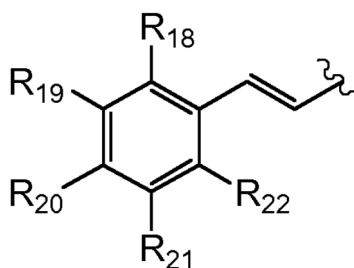
La elección de grupos atractores de electrones en el carbono C-4 y la elección de grupos donadores de electrones en los anillos de arilo puede elegirse usando técnicas bien conocidas por el experto en la técnica. En general, la capacidad de donación de electrones de sustituyentes comunes adecuados para su uso en los anillos de arilo puede estimarse por sus valores de Hammett σ . El valor de Hammett σ_{para} es una medición relativa que compara la influencia electrónica del sustituyente en la posición para de un anillo de fenilo con la influencia electrónica de un hidrógeno sustituido en la posición para. Normalmente, para sustituyentes aromáticos en general, un valor de Hammett σ_{para} negativo es indicativo de un grupo o sustituyente que tiene una influencia de donación de electrones sobre un sistema de electrones pi (es decir, un grupo donador de electrones) y un valor de Hammett σ_{para} positivo es indicativo de un grupo o sustituyente que tiene una influencia de atracción de electrones sobre un sistema de electrones pi (es decir, un grupo extractor de electrones). De manera similar, el valor de Hammett σ_{meta} es una medición relativa que compara la influencia electrónica del sustituyente en la posición meta de un anillo de fenilo con la influencia electrónica de un hidrógeno sustituido en la posición meta. Una lista de valores de Hammett σ_{para} y σ_{meta} para sustituyentes comunes puede encontrarse en Lowry y Richardson, "Mechanism and Theory in Organic Chemistry", 3ª ed., p. 144. El efecto de algunos sustituyentes, incluyendo algunos grupos atractores de electrones, sobre la acidez de C-H también puede encontrarse en la página 518 en Lowry y Richardson, "Mechanism and Theory in Organic Chemistry", 3ª ed.

El experto en la técnica puede usar métodos de computación para cuantificar y predecir los efectos de los grupos donadores y atractores de electrones elegidos sobre la afinidad de unión a zinc de la curcumina, la solubilidad en agua y el pKa (constante de disociación de ácido) de hidrógenos ionizables, entre otras propiedades farmacéuticas. El software disponible comercialmente que puede usarse, solo o en combinación, para tales métodos de computación incluye, pero no se limita a, ACD/PhysChem Suite® (Advanced Chemical Development, Inc., Ontario, Canadá), Gaussian 03 (Gaussian, Inc., Wallingford, CT), Spartan® (Wavefunction, Inc., Irvine, CA), MacroModel y QikProp (Schrödinger, Inc., Nueva York, NY).

Tal como se usa en el presente documento, el término “grupo atractor de electrones” se refiere a un sustituyente o grupo funcional que tiene la propiedad de aumentar la densidad de electrones a su alrededor en relación con grupos en su proximidad. La propiedad de atracción de electrones es una combinación de inducción y resonancia. La atracción de electrones por inducción se refiere al desplazamiento de nubes de electrones hacia el más electronegativo de dos átomos en un enlace σ . Por tanto, la nube de electrones entre dos átomos de diferente electronegatividad no es uniforme y se produce un estado permanente de polarización del enlace de manera que el átomo más electronegativo tiene una ligera carga negativa y el otro átomo tiene una ligera carga positiva. La atracción de electrones por resonancia se refiere a la capacidad de sustituyentes o grupos funcionales para atraer la densidad de electrones basándose en estructuras de resonancia relevantes que surgen del solapamiento de orbitales p. Los grupos atractores de electrones adecuados incluyen, pero no se limitan a, -CN, -CF₃, halógeno, -NO₂, -OCF₃, -OR₁₂, -NHCOR₁₂, -SR₁₂, -SO₂R₁₃, -COR₁₄, -CSR₁₄, -CNR₁₄, -C(=NR₁₂)R₁₄, -C(=NH)R₁₄, -SOR₁₂, -POR₁₂, -P(=O)(OR₁₂)(OR₁₃) o -P(OR₁₂)(OR₁₃),

en los que R₁₂ y R₁₃ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, -SOR₂₃, -POR₂₃, -C(=S)R₂₃, -C(=NH)R₂₃, C(=NR₂₄)R₂₃, -C(=N)R₂₃, -P(=O)(OR₂₃)(OR₂₄), -P(OR₂₃)(OR₂₄), -C(=S)R₂₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo.

Los compuestos de la presente invención pueden estar en forma de sal. Tal como se usa en el presente documento, una “sal” es la sal de los presentes compuestos que se ha modificado preparando sales de ácido o base de los compuestos. Las sustancias ácidas pueden formar sales con bases aceptables, incluyendo, pero sin limitarse a, lisina, arginina y similares. En el caso de compuestos administrados a un sujeto, por ejemplo, un ser humano, la sal es farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos formadas en residuos básicos tales como grupos amino; sales de bases alcalinas u orgánicas formadas en residuos ácidos tales como fenoles, ácidos carboxílicos y carbonos que tienen al menos 1 átomo de hidrógeno ácido adyacente a un carbonilo. Cuando se forman sales de ácido, tales sales pueden prepararse usando un ácido orgánico o inorgánico. Tales sales de ácido incluyen, pero no se limitan a, cloruros, bromuros, sulfatos, nitratos, fosfatos, sulfonatos, formiatos, tartratos, maleatos, malatos, citratos, benzoatos, salicilatos, ascorbato y similares. Debido a que los compuestos de la presente invención también presentan carbonos que tienen al menos 1 átomo de hidrógeno ácido adyacente a un carbonilo, pueden formarse sales de enolato por reacción con una base adecuada. Las bases adecuadas incluyen, pero no se limitan a, bases inorgánicas, tales como hidróxidos de metales alcalinos y alcalinotérreos; y bases orgánicas, incluyendo, pero sin limitarse a, amoníaco, alquilaminas, aminoalcoholes, aminoazúcares, aminoácidos, tales como glicina, histidina y lisina, y amidas de metales alcalinos, tales como diisopropilamida de litio. El término “sal farmacéuticamente aceptable” en este sentido se refiere a las sales de adición de ácidos o bases inorgánicas y orgánicas, relativamente no tóxicas, de los compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos de la invención, o haciendo reaccionar por separado un compuesto purificado de la invención en su forma

de base libre o ácido libre con un ácido o base orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato y similares. (Véase, por ejemplo, Berge *et al.* (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19).

Los compuestos y composiciones de esta invención pueden administrarse en diversas formas, incluyendo las detalladas en el presente documento. El tratamiento con el compuesto puede ser un componente de una terapia combinada o una terapia adyuvante, es decir, el sujeto o paciente que necesita el fármaco se trata con o se le administra otro fármaco para la enfermedad junto con uno o más de los presentes compuestos. Esta terapia de combinación puede ser una terapia secuencial donde el paciente se trata en primer lugar con un fármaco y luego el otro o los dos fármacos se administran simultáneamente. Estos pueden administrarse independientemente por la misma vía o por dos o más vías de administración diferentes dependiendo de las formas de dosificación empleadas.

Tal como se usa en el presente documento, un "portador farmacéuticamente aceptable" es un disolvente, agente de suspensión o vehículo farmacéuticamente aceptable, para suministrar los presentes compuestos al animal o ser humano. El portador puede ser líquido o sólido y se selecciona teniendo en cuenta la forma de administración planificada. Los liposomas también son un portador farmacéuticamente aceptable.

La dosificación de los compuestos administrados en el tratamiento variará dependiendo de factores tales como las características farmacodinámicas de un agente quimioterápico específico y su modo y vía de administración; la edad, el sexo, la tasa metabólica, la eficiencia de absorción, la salud y el peso del receptor; la naturaleza y extensión de los síntomas; el tipo de tratamiento concurrente que se administra; la frecuencia del tratamiento con; y el efecto terapéutico deseado.

Una unidad de dosificación de los compuestos puede comprender un único compuesto o mezclas de los mismos con otros compuestos también usados para tratar artritis reumatoide (RA), osteoartritis (OA), metástasis, enfermedad periodontal, tal como periodontitis, angiogénesis, enfisema, síndrome de dificultad respiratoria aguda, esclerosis múltiple, enfermedad cardiovascular, tal como aterosclerosis, infarto de miocardio, reestenosis arterial tras angioplastia y desarrollo de aneurisma; trastornos inflamatorios, incluyendo neuroinflamación y enfermedad inflamatoria intestinal; muchos tipos de cáncer, incluyendo cáncer de mama, cáncer de piel, incluyendo, pero sin limitarse a, melanoma, y cáncer de próstata; diabetes, accidente cerebrovascular, neuropatía periférica, traumatismo cerebral, pancreatitis y trastornos de la piel, incluyendo, pero sin limitarse a, heridas, incluyendo úlceras de la piel, envejecimiento acelerado y enfermedades inflamatorias de la piel; enfermedades óseas incluyendo, pero sin limitarse a, osteoporosis. Los compuestos pueden administrarse en formas de dosificación oral tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, elixires, tinturas, suspensiones, jarabes y emulsiones. Los compuestos también pueden administrarse en forma intravenosa (bolo o infusión), intraperitoneal, subcutánea o intramuscular, o introducirse directamente, por ejemplo, mediante administración tópica, inyección u otros métodos, en el área afectada, tal como una herida, incluyendo úlceras de la piel, todos usando formas de dosificación bien conocidas por los expertos habituales en la técnica farmacéutica.

Los compuestos pueden administrarse en mezcla con diluyentes, extensores, excipientes o portadores farmacéuticos adecuados (denominados colectivamente en el presente documento portador farmacéuticamente aceptable) adecuadamente seleccionados con respecto a la forma de administración prevista y de acuerdo con las prácticas farmacéuticas convencionales. La unidad estará en una forma adecuada para administración oral, rectal, tópica, inyección intravenosa o directa o parenteral. Los compuestos pueden administrarse solos, pero generalmente se mezclan con un portador farmacéuticamente aceptable. Este portador puede ser sólido o líquido, y el tipo de portador generalmente se elige basándose en el tipo de administración que se usa. En una realización, el portador puede ser un anticuerpo monoclonal. El agente activo puede administrarse conjuntamente en forma de un comprimido o cápsula, liposoma, como un polvo aglomerado o en forma líquida. Los ejemplos de portadores sólidos adecuados incluyen lactosa, sacarosa, gelatina y agar. Las cápsulas o comprimidos pueden formularse fácilmente y pueden hacerse fáciles de tragar o masticar; otras formas sólidas incluyen gránulos y polvos a granel. Los comprimidos pueden contener aglutinantes, lubricantes, diluyentes, agentes disgregantes, agentes colorantes, agentes aromatizantes, agentes inductores de flujo y agentes de fusión adecuados. Ejemplos de formas de dosificación líquidas adecuadas incluyen disoluciones o suspensiones en agua, grasas y aceites farmacéuticamente aceptables, alcoholes u otros disolventes orgánicos, incluyendo ésteres, emulsiones, jarabes o elixires, suspensiones, disoluciones y/o suspensiones reconstituidas a partir de gránulos no efervescentes y preparaciones efervescentes reconstituidas a partir de gránulos efervescentes. Tales formas de dosificación líquidas pueden contener, por ejemplo, disolventes, conservantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, diluyentes, edulcorantes, espesantes y agentes de fusión adecuados. Las formas de dosificación oral contienen opcionalmente aromatizantes y agentes colorantes. Las formas parenterales e intravenosas también pueden incluir minerales y otros materiales para hacer que sean compatibles con el tipo de sistema de inyección o suministro elegido.

Se describen ejemplos específicos de portadores y excipientes farmacéuticos aceptables que pueden usarse para formas de dosificación oral de la presente invención en la patente estadounidense n.º 3.903.297 concedida a Robert, presentada el 2 de septiembre de 1975. Se describen técnicas y composiciones para preparar formas de dosificación

útiles en la presente invención en las siguientes referencias: 7 *Modern Pharmaceutics*, capítulos 9 y 10 (Banker & Rhodes, editores, 1979); *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* (Lieberman *et al.*, 1981); Ansel, *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 2ª edición* (1976); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17ª ed. (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985); *Advances in Pharmaceutical Sciences* (David Ganderton, Trevor Jones, Eds., 1992); 5 *Advances in Pharmaceutical Sciences vol. 7.* (David Ganderton, Trevor Jones, James McGinity, Eds., 1995); *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms* (Drugs and the Pharmaceutical Sciences, serie 36 (James McGinity, Ed., 1989); *Pharmaceutical Particulate Carriers: Therapeutic Applications: Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, vol. 61 (Alain Rolland, Ed., 1993); *Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract* (Ellis Horwood Books in the Biological Sciences. Series in Pharmaceutical Technology; J. G. Hardy, S. S. Davis, Clive G. Wilson, Eds.); *Modern Pharmaceutics Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, vol. 40 (Gilbert S. Banker, Christopher T. Rhodes, Eds.).

Los comprimidos pueden contener aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes, agentes colorantes, agentes aromatizantes, agentes inductores de flujo y agentes de fusión adecuados. Por ejemplo, para la administración oral en forma unitaria de dosificación de un comprimido o cápsula, el componente farmacológico activo puede combinarse con un portador inerte oral, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como lactosa, gelatina, agar, almidón, 15 sacarosa, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, manitol, sorbitol y similares. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, y 20 similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana, y similares.

Los compuestos también pueden administrarse en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas. Los 25 compuestos pueden administrarse como componentes de emulsiones dirigidas a tejidos.

Los compuestos también pueden acoplarse a polímeros solubles como portadores de fármacos dirigibles o como un profármaco. Tales polímeros incluyen polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxiopropilmetacrilamida-fenol, polihidroxietilsparta-midefenol o poli(óxido de etileno)-polilisina sustituido con residuos de palmitoílo. Además, los 30 compuestos pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico), poli(épsilon caprolactona), poli(ácido hidroxibutírico), poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacilatos y copolímeros en bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

El término "profármaco", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier compuesto que cuando se administra a un sistema biológico genera el compuesto de la invención, como resultado de reacción/reacciones 35 química(s) espontánea(s), reacción/reacciones química(s) catalizada(s) por enzimas, fotólisis y/o reacción/reacciones química(s) metabólica(s). Por tanto, un profármaco es una forma análoga o latente modificada covalentemente de un compuesto de la invención.

El principio activo puede administrarse por vía oral en formas de dosificación sólidas, tales como cápsulas, comprimidos, polvos y goma de mascar; o en formas de dosificación líquidas, tales como elixires, jarabes y 45 suspensiones, incluyendo, pero sin limitarse a, colutorio y pasta de dientes. También puede administrarse por vía parental, en formas de dosificación líquidas estériles.

Las formas de dosificación sólidas, tales como cápsulas y comprimidos, pueden tener un recubrimiento entérico para impedir la liberación de los compuestos del principio activo antes de que lleguen al intestino delgado. Los materiales que pueden usarse como recubrimientos entéricos incluyen, pero no se limitan a, azúcares, ácidos grasos, ceras, laca, 50 ftalato-acetato de celulosa (CAP), copolímeros de acrilato de metilo-ácido metacrílico, succinato-acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato-acetato de hidroxipropilmetilcelulosa (succinato-acetato de hipromelosa), poli(ftalato-acetato de vinilo) (PVAP) y copolímeros de metacrilato de metilo-ácido metacrílico.

Las cápsulas de gelatina pueden contener los compuestos del principio activo y portadores en polvo, tales como lactosa, almidón, derivados de celulosa, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Pueden usarse diluyentes 55 similares para preparar comprimidos preparados por compresión. Tanto los comprimidos como las cápsulas pueden fabricarse como productos de liberación inmediata o como productos de liberación sostenida para proporcionar la liberación continua de medicamento a lo largo de un periodo de horas. Los comprimidos preparados por compresión pueden estar recubiertos con azúcar o recubiertos con película para enmascarar cualquier sabor desagradable y proteger el comprimido de la atmósfera, o con recubrimiento entérico para la disgregación selectiva en el tracto gastrointestinal.

Para administración oral en forma de dosificación líquida, los componentes del fármaco oral se combinan con cualquier portador inerte oral, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los ejemplos 65 de formas de dosificación líquidas adecuadas incluyen disoluciones o suspensiones en agua, grasas y aceites farmacéuticamente aceptables, alcoholes u otros disolventes orgánicos, incluyendo ésteres, emulsiones, jarabes o

elixires, suspensiones, disoluciones y/o suspensiones reconstituidas a partir de gránulos no efervescentes y preparaciones efervescentes reconstituidas a partir de gránulos efervescentes. Tales formas de dosificación líquidas pueden contener, por ejemplo, disolventes, conservantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, diluyentes, edulcorantes, espesantes y agentes de fusión adecuados.

5 Las formas de dosificación líquidas para administración oral pueden contener colorantes y aromatizantes para aumentar la aceptación del paciente. En general, agua, un aceite adecuado, solución salina, dextrosa acuosa (glucosa) y disoluciones azucaradas relacionadas y glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicoles son portadores adecuados para disoluciones parenterales. Las disoluciones para administración parenteral contienen una sal soluble
10 en agua del principio activo, agentes estabilizantes adecuados y, si es necesario, sustancias tampón. Las formas de dosificación líquidas de liberación sostenida adecuadas para la administración parenteral, que incluyen, pero no se limitan a, microemulsiones de agua en aceite y de aceite en agua y polímeros de microesferas biodegradables, pueden usarse según métodos bien conocidos por los expertos habituales en la técnica. Agentes antioxidantes tales como bisulfito de sodio, sulfito de sodio o ácido ascórbico, o bien solos o bien combinados, son agentes estabilizantes
15 adecuados. También se usan ácido cítrico y sus sales y EDTA de sodio. Además, las disoluciones parenterales pueden contener conservantes, tales como cloruro de benzalconio, metil o propilparabeno y clorobutanol. Se describen portadores farmacéuticos adecuados en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, un texto de referencia convencional en este campo. Pueden usarse agentes solubilizantes para mejorar la solubilidad de los compuestos de la presente invención en la forma de dosificación líquida. Los agentes solubilizantes adecuados
20 incluyen, pero no se limitan a, aminas, aminoalcoholes, aminoazúcares y aminoácidos, tales como glicina, histidina y lisina.

Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse en forma intranasal por medio del uso de vehículos intranasales adecuados, o por medio de rutas transdérmicas, usando aquellas formas de parches cutáneos transdérmicos bien conocidos por los expertos habituales en la técnica. Para administrarse en forma de un sistema de administración transdérmica, la administración de la dosificación generalmente será continua en lugar de intermitente durante todo el régimen de dosificación.

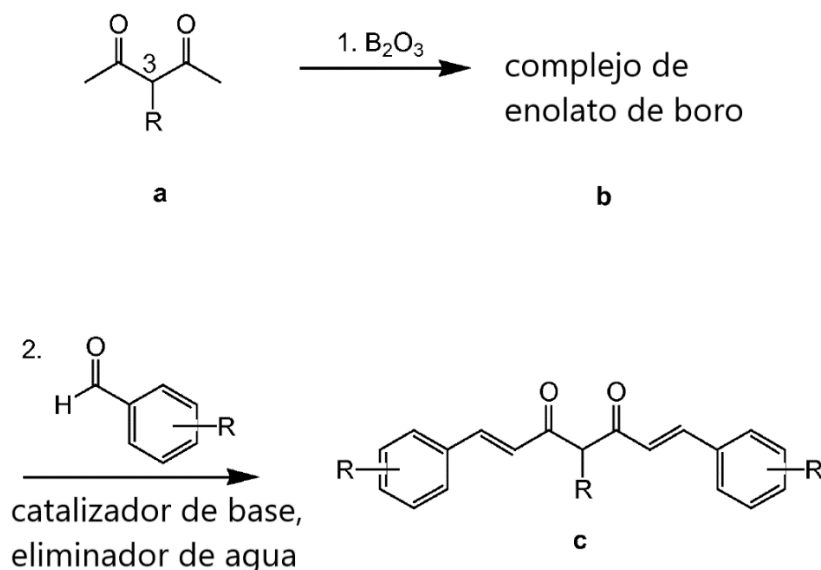
Las formas parenterales e intravenosas también pueden incluir minerales y otros materiales para hacer que sean compatibles con el tipo de sistema de inyección o suministro elegido.

Pueden recubrirse stents con los compuestos y las composiciones de la invención para su implantación temporal o permanente en el sistema cardiovascular de un sujeto. Los compuestos y las composiciones de la presente invención, como la curcumina y otros análogos de curcumina, son útiles para tratar artritis reumatoide (RA), osteoartritis (OA), metástasis, enfermedad periodontal, tal como periodontitis, angiogénesis, enfisema, síndrome de dificultad respiratoria aguda, esclerosis múltiple, enfermedad cardiovascular, tal como aterosclerosis, infarto de miocardio, reestenosis arterial tras angioplastia y desarrollo de aneurisma; trastornos inflamatorios, incluyendo neuroinflamación y enfermedad inflamatoria intestinal; muchos tipos de cáncer, incluyendo cáncer de mama, cáncer de piel, incluyendo, pero sin limitarse a, melanoma y cáncer de próstata; diabetes, accidente cerebrovascular, neuropatía periférica, traumatismo cerebral y pancreatitis; enfermedades óseas incluyendo, pero sin limitarse a, osteoporosis.

Se ha sabido que la curcumina es útil en el tratamiento de trastornos de la piel, incluyendo, pero sin limitarse a, heridas, psoriasis, acné, quemaduras, eczema, así como la inflamación que acompaña a tales trastornos (20-24). Singer y colaboradores han demostrado que la curcumina reduce la progresión de quemaduras en ratas (21) y Sidhu y colaboradores han demostrado que la curcumina es eficaz para mejorar la cicatrización de heridas en animales (22), incluyendo ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina y los ratones genéticamente diabéticos (23). Además, Phan y colaboradores han demostrado que la curcumina presenta una potente inhibición contra el daño por peróxido de hidrógeno en queratinocitos y fibroblastos humanos (24). Por consiguiente, los compuestos y composiciones mejorados de la presente invención son útiles para el tratamiento de trastornos de la piel, incluyendo, pero sin limitarse a, heridas, incluyendo úlceras de la piel y enfermedades inflamatorias de la piel.

Para los expertos en la técnica serán fácilmente evidentes variaciones en los siguientes métodos de síntesis generales y se considera que están dentro del alcance de la presente invención (47).

55



Esquema 1. Síntesis de análogos de curcumina

- 5 La síntesis de los análogos de curcumina de la presente invención puede llevarse a cabo según el esquema general 1. Los grupos R designan cualquier número de sustituyentes genéricos.

El material de partida viene proporcionado por 2,4-pentanediona, que está sustituida en el carbono 3 (véase el compuesto a). La 2,4-pentanediona sustituida deseada puede adquirirse de fuentes comerciales o puede sintetizarse usando transformaciones de grupos funcionales convencionales bien conocidas en las técnicas químicas, por ejemplo, las expuestas en Organic Synthesis, Michael B. Smith, (McGraw-Hill) segunda ed. (2001) y March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Michael B. Smith y Jerry March, (Wiley) sexta ed. (2007), y específicamente por Bingham y Tyman (45) y en el caso de compuestos de 3-aryl-aminocarbonilo por Dieckman, Hoppe y Stein (46). La 2,4-pentanediona a se hace reaccionar con trióxido de boro para formar un complejo de enolato de boro b.

El complejo de enolato de boro b es un complejo formado por la coordinación del enolato del compuesto a con boro. Los expertos habituales en la materia entienden que el número de enolatos de compuesto a que pueden coordinarse con el boro, así como el modo de coordinación, es decir, monodentado frente a bidentado, son variables siempre que se suprima la reacción, como la condensación de Knoevenagel, en el carbono C-3 de la 2,4-pentanediona.

El complejo de enolato de boro b se expone entonces a un compuesto de benzaldehído en presencia de un catalizador de base y un eliminador de agua para formar el análogo de curcumina c por condensación aldólica. El experto habitual en la materia apreciará que el benzaldehído puede presentar diversos sustituyentes en el anillo de fenilo siempre que no se vea dificultada la reactividad en la posición de aldehído. Los compuestos de benzaldehído sustituido pueden adquirirse de fuentes comerciales o sintetizarse fácilmente usando química de sustitución de arilo que se conoce bien en la técnica. Los catalizadores de base adecuados para la etapa aldólica incluyen, pero no se limitan a, aminas secundarias, tales como n-butilamina y acetato de n-butilamina, y aminas terciarias. Los eliminadores de agua adecuados incluyen, pero no se limitan a, boratos de alquilo, tales como borato de trimetilo, fosfatos de alquilo y mezclas de los mismos. Krackov y Bellis también han descrito otros parámetros de reacción adecuados en la patente estadounidense 5.679.864.

Todas las combinaciones de los diversos elementos descritas en el presente documento están dentro del alcance de la invención.

En el presente documento, cuando se dan a conocer sustituyentes químicos en la alternativa, se pretende que cada uno de tales sustituyentes pueda usarse o combinarse con uno o más de los otros sustituyentes dados a conocer en la alternativa.

Esta invención se entenderá mejor con referencia a los detalles experimentales que siguen, pero los expertos en la materia apreciarán fácilmente que los experimentos específicos detallados son solo ilustrativos de la invención tal como se describe más completamente en las reivindicaciones que siguen después de eso.

Detalles experimentales

45 Procedimiento general para la síntesis de curcuminas modificadas químicamente:

Se colocaron óxido de boro (0,49 g, 7 mmol, 0,7 eq.) y 3-metoxicarbonil-pentano-2,4-diona (45) (1,58 g, 10mmol, 1,0 eq.) {o en los casos de los compuestos 11, 12 y 13, 10 mmol de 3-(N-fenilaminocarbonil)pentano-2,4-diona (46)} en un matraz de 50 ml y se calentó la mezcla hasta 90°C durante 5 min para formar un vidrio de color amarillo pálido. Se disolvieron el aldehído aromático seleccionado (20 mmol, 2,0 eq.) y borato de trimetilo (4,16 g, 40 mmol, 4,0 eq.) en acetato de etilo seco (10 ml) y se añadieron gradualmente al matraz (3 min) con agitación magnética. Entonces se añadieron butilamina (0,05 ml) y acetato de butilamonio en disolución de dimetilformamida (0,2 ml; 0,136 g/ml). Tras aproximadamente 1 hora, comenzó a formarse un precipitado y se continuó agitando a temperatura ambiente durante 48 horas. Se retiró el precipitado rojizo por filtración, se lavó con dietil éter (5 ml), luego se disolvió en metanol (50 ml) y se sometió a ebullición durante 30 min, tiempo durante el cual el color se volvió mucho más claro. Entonces se retiró el metanol mediante evaporación rotatoria y se purificó el producto en bruto mediante cristalización en diclorometano (20 ml) y metanol (20 ml).

Ejemplo 1

Preparación de 1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (1).

Se fundió una mezcla de trióxido de boro (B_2O_3 : 1,5 g) y 3-metoxicarbonilpentan-2,4-diona (2,5 g) a 120°C hasta que se formó una masa fundida homogénea (3 min). La 3-metoxicarbonilpentan-2,4-diona puede sintetizarse usando métodos conocidos (25, 26). Por ejemplo, reacción de ácido 3-acetiliotetrónico, que se sintetiza mediante un método conocido (25), con metanol produce 3-metoxicarbonilpentan-2,4-diona (26). A la masa fundida homogénea se le añadió entonces una disolución de borato de trimetilo (6,0 g) y vainillina (4,5 g) en acetato de etilo (15 ml) seguido por acetato de butilamina (0,068 g) en disolución de dimetilformamida (0,5 ml) seguido por 2 gotas (pipeta pasteur) de butilamina. La mezcla, cuando se agitó, se volvió rápidamente homogénea y tras tres horas comenzó a formarse un precipitado rojo, lo que se completó tras reposar durante 24 h. Se filtró la disolución y el sólido (7,5 g) que se recogió se lavó con éter, se secó y se añadió a metanol (60 ml). Se sometió la mezcla a ebullición suavemente durante tres horas con destilación lenta, luego se concentró hasta 30 ml, cuando el producto, compuesto 2, (4,4 g) cristalizó espontáneamente. Punto de fusión (p.f.): 178-179°C. La concentración de las aguas madre dio una segunda cosecha (0,3 g) de p.f. idéntico. Rendimiento total, 73,6% basándose en vainillina. Espectro de masas m/e: hallado 426,01; calc. 426,25. 1H -RMN $CDCl_3$: Picos significativos δ 3,944(s, 3H, OCH_3), 3,952 (s, 6H OCH_3), 5,89 (s, 2H, OH) 18,3 (S, 1H, H en C4). Protones aromáticos y etilénicos 6,9-7,3 (12H) tal como se esperaba.

Se demuestra que las curcuminas modificadas químicamente que presentan un grupo atractor de electrones en el carbono C-4 tienen una actividad de inhibición de MMP, activación de la inhibición de NF κ B e inhibición de la producción de citocinas proinflamatorias mejoradas.

Los siguientes compuestos se prepararon según el procedimiento general descrito anteriormente en el presente documento.

1,7-Bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (1): 72,0% de rendimiento. P.f. 175-176°C. Espectro de masas m/e 425,1(M-1)⁺; calc. 426,0. 1H -RMN ($CDCl_3$): Picos significativos 3,880 (s. 6H, OCH_3 aromático) 3,760 (s. 3H, OCH_3 de éster), 17,960 (s. 1H, H en C4). Protones aromáticos y etilénicos 7,3-8,8 (10H).

1,7-Bis(4-hidroxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (3): 49,2% de rendimiento. P.f. 214-216°C. Espectro de masas m/e: 365,0(M-1)⁺; calc. 365,1. 1H -RMN ($CDCl_3$): Picos significativos 3,777 (s. 3H, OCH_3), 18,164 (s. 1H, H en C4), 9,320 (s. 2H, OH). Protones aromáticos y etilénicos 6,8-7,7 (12H).

1,7-Bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-4-N-fenilaminocarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (6): 11,0% de rendimiento. P.f. 193-194°C. Espectro de masas m/e: 486,2(M-1)⁺; calc. 486,1. 1H -RMN ($DMSO-d_6$): Picos significativos 17,570 (s. 1H, H en C4), 10,580 (s. H, NH), 9,777 (s. 2H, OH), 3,701 (s. 6H, OCH_3). Protones aromáticos y etilénicos 6,7-7,8 (10H).

1,7-Bis(4-hidroxifenil)-4-N-fenilaminocarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (7): 10,2% de rendimiento. P.f. 220-221°C. Espectro de masas m/e: 426,2(M-1)⁺; calc. 426,1. 1H -RMN ($DMSO-d_6$): Picos significativos 17,561 (s. 1H, H en C4), 10,609 (s. H, NH), 10,159 (s. 2H, OH). Protones aromáticos y etilénicos 6,7-7,8 (12H).

1,7-Bis(4-dimetilaminofenil)-4-N-fenilaminocarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (8): 26,8% de rendimiento. P.f. 208-209°C. Espectro de masas m/e: 480,3(M-1)⁺; calc. 480,4. 1H -RMN ($DMSO-d_6$): Picos significativos 17,773 (s. 1H, H en C4), 10,556 (s. H, NH), 2,959 (s. 12H, $N(CH_3)_2$). Protones aromáticos y etilénicos 6,7-7,8 (12H).

1,7-Bis(3-piridil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (9): 38,7% de rendimiento. P.f. 195-196°C. Espectro de masas m/e: 335,69(M-1)⁺; calc. 335,01. 1H -RMN ($CDCl_3$): Picos significativos 3,960 (s. 3H, OCH_3), 18,050 (s. 1H, H en C4). Protones aromáticos y etilénicos 7,0-8,6 (12H).

1,7-Bis(2-hidroxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (10): 46,3% de rendimiento. p.f. 165-166°C. Espectro de masas m/e: 365,1(M-1)⁺; calc. 365,1. 1H -RMN ($CDCl_3$): Picos significativos 3,610 (s. 3H, OCH_3), 17,980 (s. 1H, H en C4), 9,420 (s. 2H, OH). Protones aromáticos y etilénicos 6,4-7,9 (12H).

1,7-Bis(3-hidroxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (11): 20,2% de rendimiento. P.f. 188-189°C. Espectro de masas m/e: 365,1(M-1)⁺; calc. 365,1. ¹H-RMN (CDCl₃): Picos significativos 3,851 (s. 3H, OCH₃), 18,010 (s. 1H, H en C4), 8,890 (s. 2H, OH). Protones aromáticos y etilénicos 6,7-7,7 (12H).

5 1,7-Bis(3-nitro-4-hidroxi-5-metoxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (12): 26,0% de rendimiento. P.f. N/A. Espectro de masas m/e: 515,2(M-1)⁺; calc. 515,1. ¹H-RMN (CDCl₃): Picos significativos 3,873 (s. 3H, OCH₃), 18,056 (s. 1H, H en C4), 11,010 (s. 2H, OH). Protones aromáticos y etilénicos 7,3-8,8 (8H).

10 1,7-Bis(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (13): 77,0% de rendimiento. p.f. 179-180°C. Espectro de masas m/e: 485,2(M-1)⁺; calc. 485,0. ¹H-RMN CDCl₃: Picos significativos 3,925 (s. 3H, OCH₃ de éster), 3,948 (s. 12H, OCH₃ aromático), 18,336(s. 1H, H en C4). Protones aromáticos y etilénicos 6,8-7,8 (8H).

15 1,7-Bis(4-N,N-dimetilaminofenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (14): 45,1% de rendimiento. p.f. N/A. Espectro de masas m/e: 421,4(M+1)⁺; calc. 421,1. ¹H-RMN (CDCl₃): Picos significativos 3,938 (s. 3H, OCH₃), 18,486 (s.1H, H en C4), 3,028 (s. 12H, N(CH₃)₂). Protones aromáticos y etilénicos 6,6-7,9 (12H).

20 1,7-Bis(2-hidroxi-3-metoxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (15): 25,8% p.f. 201-202°C. Espectro de masas m/e: 427,4(M+1)⁺; calc. 426,0. ¹H-RMN (CDCl₃): Picos significativos 3,824 (s. 6H, OCH₃ aromático) 3,878 (s. 3H, OCH₃ de éster), 18,125 (s.1H, H en C4), 9,609 (s. 2H, OH). Protones aromáticos y etilénicos 6,8-8,1 (10H).

25 1,7-Bis(4-acetoxi-3-metoxifenil)-4-metoxicarbonilhepta-1E,6E-dien-3,5-diona (16): 46,0% p.f. 169-170°C. Espectro de masas m/e: 510,1(M-1)⁺; calc. 510,1. ¹H-RMN (CDCl₃): Picos significativos 3,610(s. 3H, OCH₃ de éster), 3,869 (s. 6H, OCH₃ aromático), 18,175 (s. 1H, H en C4). Protones aromáticos y etilénicos 7,0-7,9 (12H).

Se notifican datos espectrales de masa en modo de ión negativo o positivo dependiendo del compuesto específico.

Ejemplo 2

30 Inhibición de MMP

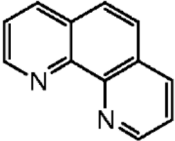
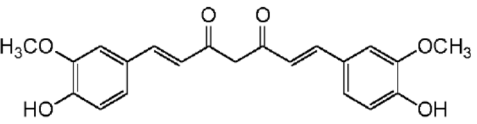
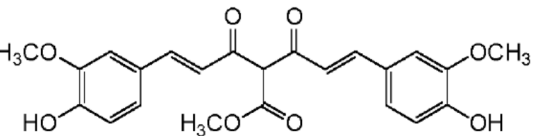
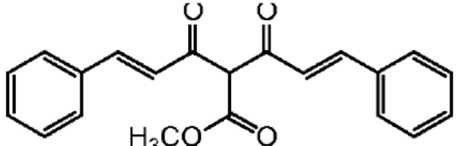
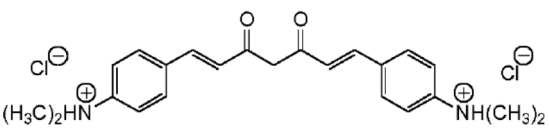
Se ha observado que concentraciones de 50 y 100 μM de curcumina disminuían la producción de TNFα por monocitos humanos (HM) estimulados con endotoxinas en cultivo en un 80-90% (concentraciones inferiores de curcumina, 10 y 20 μM, no tenían efecto). Sin embargo, este efecto inhibitor estaba asociado con algo de precipitación de la curcumina en cultivo celular y con citotoxicidad significativa. Se planteó la hipótesis de que el aumento de la solubilidad de curcumina: (i) mejorará su eficacia como inhibidor de la expresión de citocinas, (ii) reducirá su citotoxicidad y (iii) conservará (quizá incluso mejorará; véase a continuación) su potencia, como compuesto de inhibidor de MMP (MMPI), que se encontró que era similar a la del compuesto quelante de Zn²⁺, 1,10-O-fenantrolina (figura 1). Sin embargo, debe indicarse que una inhibición excesiva de la actividad de MMP puede no ser deseable terapéuticamente porque puede ser necesario un nivel mínimo, o basal, de MMP para una defensa óptima del huésped (27).

Se generaron dos curcuminas modificadas químicamente, compuesto 1 y 2, con solubilidad mejorada y se sometieron a prueba *in vitro* para determinar su potencia inhibitora de proteinasas (CI₅₀) y en un sistema de cultivo celular para determinar su citotoxicidad y propiedades antiinflamatorias.

45 La tabla 1 muestra la CI₅₀ de curcumina, compuesto 1 y compuesto 2, en comparación con un MMPI (inhibidor de metaloproteinasa de la matriz) y unión a Zn²⁺ convencional, 1,10-O-fenantrolina (o-fen), frente a PMN MMP-8 humana purificada (de EMD biologics, Inc., Gibbstown, NJ) usando un octapéptido sintético que contiene el enlace peptídico glicina-isoleucina susceptible a colagenasa y midiendo los productos de descomposición de tripéptido mediante HPLC (sistema Waters Alliance 2695 con una columna C-18 de fase inversa). El compuesto 1 era un excelente MMPI con una CI₅₀ equivalente a la de 1,10-O-fenantrolina, mientras que el compuesto 2, que carecía de sustituyentes en los restos arilo, no mostró una respuesta a la dosis.

Tabla 1. Inhibición de MMP *in vitro*

Compuesto	CI ₅₀ frente a hMMP-8 purificada	Razón de cada CI ₅₀ con respecto a CI ₅₀ de 1,10-O-fenantrolina

 1,10-O-fenantrolina	10-35 μM^*	1 = 35 μM 1 = 10 μM
 curcumina	14 μM	1,4
 compuesto 1	35 μM	1
 compuesto 2	Sin respuesta a la dosis	----
 compuesto 5	28 μM	0,8
*en un experimento, la CI_{50} para fenantrolina era 10 μM , en un segundo experimento la CI_{50} para fenantrolina era 35 μM .		

Ejemplo 3

5 Se comparó la citotoxicidad de curcumina y compuesto 1 con la de 1,10-O-fenantrolina en monocitos humanos. Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Citotoxicidad en monocitos humanos

Compuesto	Recuperación a partir de suero humano	Citotoxicidad en monocitos a las 5 h de incubación	Citotoxicidad en monocitos a las 18 h de incubación	% de inhibición de MMP-9 en medios de monocitos
1,10-O-fenantrolina	----	----	----	----
curcumina	83-94%	10 μM -0% 20 μM - 20% 50 μM - 50%	10 μM -0% 20 μM - 20% 50 μM - 77 %	nd
compuesto 1	76-80%	2 μM - 0% 10 μM -0% 25 μM - 33%	2 μM - 0% 25 μM - 45,5% 50 μM - 53%	2 μM +++++ 25 μM +++++ 50 μM +++++

10 Se logró la detección de compuestos y la capacidad de extracción/recuperación a partir de suero humano (para uso

futuro para determinar la farmacocinética *in vivo*) usando HPLC. El método de detección por HPLC se describe brevemente en el presente documento. Se incubaron 50 µl de tampón o suero humano que contenía 166,67 µM, 16,67 µM y 1,67 µM de los compuestos con 100 µl de disolvente de extracción preenfriado (-10°C) que contenía CAN-MeOH-ácido oxálico 0,5 M a una razón de 60:30:10. Se agitó con vórtex la mezcla y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 min. Entonces se tomaron alícuotas del sobrenadante y se inyectaron en una HPLC para su análisis. Se hicieron disoluciones madre de los compuestos 100x en DMSO, luego se diluyeron adicionalmente tampón o suero. Los resultados muestran el 83-94% de recuperación para curcumina y el 76-80% de recuperación para compuesto 1 (véase la tabla 2).

Ejemplo 4

Inhibición de la producción de citocinas proinflamatorias

Se examinó la inhibición de la producción de citocinas proinflamatorias por el compuesto 1. En resumen, se aislaron monocitos de sangre periférica humana (HM) a partir de un concentrado de leucocitos mediante centrifugación en gradiente de densidad (Lymphoprep) y los HM aislados se cultivaron (2 h, 37°C) para eliminar células no adherentes. Se cultivaron los HM adherentes durante 18 h (1 X 10⁶ células/pocillo, placas de 24 pocillos) ± endotoxina (LPS) ± diferentes compuestos disueltos en DMSO (la concentración final de DMSO en los medios de cultivo libres de suero RPMI con antibióticos pen./estrep. no era mayor del 0,5%). Tras la incubación, se midieron las citocinas proinflamatorias, TNFα, IL-1β, MCP-1 e IL-6 en el medio condicionado mediante ELISA y se evaluó la citotoxicidad midiendo la absorbancia (490 nm) del formazán producido por reducción de MTS. Los HM solos ± DMSO al 0,1-0,5% produjeron niveles mínimos de estas citocinas proinflamatorias. Sin embargo, la adición de 100 ng/ml o 10 µg/ml de LPS estimularon ambas drásticamente la producción de citocinas. De los compuestos sometidos a prueba, el compuesto 1 sobresalió al tener una inhibición mejorada de citocinas proinflamatorias en comparación con curcumina. A la concentración de 2 µM, el compuesto 1 no mostró evidencias de citotoxicidad (tal como se muestra en la tabla 2), pero inhibió la producción de citocinas tal como sigue: TNFα, IL-1β, MCP-1 e IL-6 se inhibieron en el 63%, el 41%, el 74% y el 30% respectivamente (véase la tabla 3).

Tabla 3. Inhibición de la producción de citocinas

Compuesto	% de inhibición de TNF-α producido por monocitos estimulados con LPS a las 18 h	% de inhibición de IL-1β producida por monocitos estimulados con LPS a las 18 h	% de inhibición de MCP-1 producida por monocitos estimulados con LPS a las 18 h	% de inhibición de IL-6 producida por monocitos estimulados con LPS a las 18 h
1,10-O-fenantrolina	-----	-----	-----	-----
curcumina	10 uM-0% 20uM- 0% 50uM- 80%	nd	nd	nd
compuesto 1	2 uM - 63% 25 uM- 100% 50 uM- 100%	2 uM - 41% 25 uM- 100% 50 uM- 100%	2 uM - 74% 25 uM- 78% 50 uM- 79%	2 uM - 30% 25 uM- 100% 50 uM- 100%

Se repitió el experimento de cultivo celular para confirmar la actividad de inhibición de citocinas proinflamatorias mejorada del compuesto 1. La figura 2 muestra que el compuesto 1 a la concentración de 2 µM era de hecho potente en la reducción de citocinas proinflamatorias tales como MCP-1 y TNFα y factores de crecimiento tales como VEGF en monocitos humanos en cultivo expuestos a LPS. Los niveles de citocinas se midieron mediante Luminex múltiplex, un método que permite la medición simultánea de diferentes marcadores biológicos.

Ejemplo 5

Inhibición de la activación de NFκB en monocitos humanos

Se estudió la inhibición de la activación de NFκB mediante el compuesto 1 en monocitos humanos en cultivo celular. Se examinó el compuesto 1 a una concentración de 2 µM y 10 µM en presencia de 2 estímulos de activación diferentes, endotoxina de LPS y complejo de CRP/oxid-LDL. Se observó que el compuesto 1 inhibió tanto la activación de NFκB estimulada por endotoxinas como la activación de NFκB estimulada por complejo de CRP/oxid-LDL (véase la tabla 4). Los estudios preliminares indicaron que el compuesto 1 tenía poco/ningún efecto sobre la activación de p38 MAP cinasa.

Tabla 4. El efecto del compuesto 1 sobre la activación de NFκB en monocitos humanos en cultivo celular.

Estímulo de activación	Concentración	% de inhibición
Endotoxina (LPS)	2 μM	24
	10 μM	85
Complejo de CRP/oxid-LDL	2 μM	91
	10 μM	100

5 Ejemplo 6*Desarrollo de un modelo de rata de diabetes tipo 1*

10 Se desarrolló un modelo de rata de diabetes tipo I para someter a prueba la eficacia de los compuestos de la invención objeto *in vivo*. Este modelo animal se caracteriza, en parte, por una actividad de MMP excesiva, descomposición de colágeno y expresión de citocinas proinflamatorias. En un programa de desarrollo de fármacos previo, que dio como resultado dos fármacos administrados de manera sistémica (por vía oral) aprobados por la FDA actualmente en el mercado (en los EE.UU. y Europa para uno, y en los EE.UU., Canadá y Europa para el otro), este modelo de rata demostró ser muy eficaz para someter a prueba la eficacia y farmacocinética (por ejemplo, vida media en suero) *in vivo* y produjo resultados consecuentes con los de los presentes estudios de cultivo celular e *in vitro* (4, 28, 29).

15 Se utilizará un modelo bien establecido de inducción de diabetes en ratas Sprague-Dawley con y sin la inducción adicional de enfermedad periodontal para investigar el mecanismo subyacente a la asociación entre diabetes y pérdida ósea en la enfermedad periodontal (30-41).

20 Se usó DLAR tanto para manipulaciones experimentales como internas para permitir una monitorización estrecha de los animales tratados y proporcionar acceso inmediato a analgesia o eutanasia según se requiera. Se permitió a las ratas aclimatarse a la instalación durante al menos tres días antes del uso experimental. Todo el personal de laboratorio y cuidado de animales recibió formación en la manipulación y el cuidado apropiados de las ratas.

25 El enfoque de investigación incluye tres áreas generales: (I) el efecto de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) en la destrucción tisular y las respuestas inmunes relacionadas con la inflamación, (II) el efecto del tratamiento profiláctico y/o terapéutico mediante la administración de los compuestos sobre las metaloproteinasas de la matriz (MMP) en la destrucción tisular y las respuestas inmunitarias relacionadas con (a) inflamación periodontal y pérdida ósea, (b) cambios sistémicos en la actividad de MMP o niveles en circulación, (c) atrofia de la piel que refleja la degradación del tejido conjuntivo mediada por MMP, y (III) la farmacocinética de análogos de curcumina relevantes que tienen un grupo atractor de electrones en el carbono C-4 en este modelo de rata de inflamación y destrucción tisular.

35 El propósito de lo siguiente era establecer un modelo *in vivo* de degradación excesiva de colágeno que va a usarse para someter a prueba la eficacia de los compuestos de la presente invención. Se pidieron ratas macho Sprague-Dawley (normalmente de 300 a 400 g de peso corporal), sin anticuerpos virales específicos, a Charles River. Después de la anestesia general por inhalación anestésica de isoflurano, se indujo diabetes mediante una administración i.v. de estreptozotocina (STZ) (50* mg/kg de peso corporal) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EE.UU.) diluida en solución salina con citrato al 0,9% (pH 4,5), después de 12 horas de ayuno. Después de la inyección de estreptozotocina, se les proporcionó a los animales libre acceso a agua y alimento. El estado diabético se confirmó semanalmente usando una tira de prueba de glucosa (Tes-Tape, Eli Lilly), que reveló >2% de glucosa en la orina de los animales a los que se les inyectó STZ en el plazo de las primeras 24-48 horas después de la inyección de estreptozotocina. En esta prueba, el color del papel de prueba cambia a marrón oscuro, lo que indica glucosuria. Durante el período experimental, tal como se esperaba, todas las ratas diabéticas demostraron polidipsia (consumo excesivo de bebida), polifagia (consumo excesivo de comida), poliuria (micción excesiva), pérdida de peso corporal e hiperglucemia.

45 Se observa una tasa de mortalidad del 25% después de una única inyección de una dosis de hasta 70 mg/kg de peso corporal de estreptozotocina. Esta tasa de mortalidad se ha tenido en cuenta al determinar el número de ratas requeridas por grupos experimentales. A los animales de control normales se les inocula un volumen equivalente de tampón citrato usando la misma vía que los animales en los que se indujo diabetes.

50 El día 21, se sacrificaron los animales por medio de inhalación de CO₂. Se recogieron muestras de sangre por punción cardíaca en tubos Vacutainer que contenían citrato de sodio Liquaemin (Liquemine, La Roche Ltd, Basilea, Suiza). Después de la centrifugación, se separó el plasma y se tomaron alícuotas y se almacenaron a -80°C para futuros análisis. Un nivel de glucosa en plasma superior a 300 mg/dl confirmó la presencia de diabetes.

Se recogieron muestras gingivales y se agruparon a partir de cada grupo para la extracción, seguido por purificación parcial y análisis de colagenasa y gelatinasa en los extractos. Se extirparon el bazo, el corazón y las glándulas salivales para cualquiera de evaluación histológica, fenotipos de células linfocíticas, análisis de expresión de citocinas/quimiocinas. Se recogieron biopsias de piel dorsal de aproximadamente 2x2 pulgadas y se congelaron inmediatamente a -80°C para el análisis de solubilidad y contenido de colágeno. Todos los tejidos se congelaron a -80°C y el análisis bioquímico se llevó a cabo a su debido tiempo. Se descarnaron tanto la mandíbula superior como la inferior y se tiñeron para el análisis morfométrico de la pérdida ósea bajo un microscopio de disección (20x). En futuros experimentos, la pérdida de volumen óseo puede evaluarse mediante exploración por micro TC.

5 controles y 8 ratas diabéticas (después de una única inyección i.v. de estreptozotocina a 50 mg/kg de peso corporal) se sacrificaron el día 21. Se analizaron los niveles de peso corporal y glucosa en sangre y los resultados se muestran en las figuras 3 y 4.

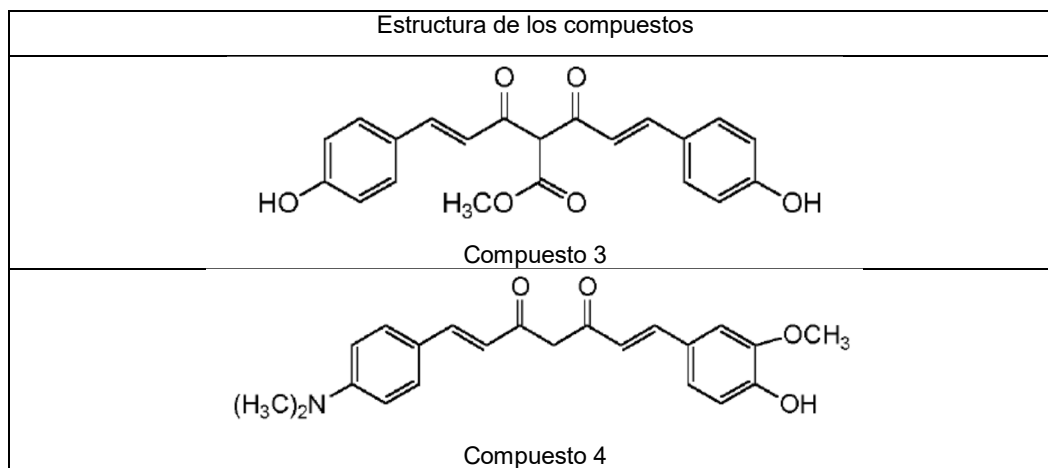
El efecto de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) en la destrucción del tejido y las respuestas inmunitarias relacionadas con la inflamación periodontal, el efecto del tratamiento profiláctico y/o terapéutico sobre las metaloproteinasas de la matriz (MMP) en la destrucción tisular y las respuestas inmunitarias relacionadas con la inflamación periodontal y la pérdida ósea, así como otras respuestas tisulares, y su farmacocinética, se examinan mediante la administración de análogos de curcumina relevantes que tienen un grupo atractor de electrones en el carbono C-4 en este modelo de rata de inflamación y correlacionando los cambios observados.

Ejemplo 7

Inhibición *in vitro* de MMP-8

Usando las mismas condiciones experimentales descritas en el ejemplo 2, los resultados indicaron que el compuesto 3 (tabla 5), otro derivado de la curcumina, es más potente como inhibidor de MMP o colagenasa que el compuesto 1. Tal como se describió anteriormente en el presente documento, el compuesto 1 (una metoxicarbonilcurcumina) era igual en potencia a 1,10-fenantrolina (un quelante de zinc normalmente usado para bloquear los ensayos de actividad colagenasa *in vitro*; la fenantrolina es un compuesto tóxico no apto para su uso *in vivo*) como inhibidor de colagenasa humana, y más potente que la curcumina natural *in vitro*. Además, el compuesto 3 es más soluble en disoluciones acuosas que el compuesto 1 que, a su vez, es más soluble que el producto natural insoluble curcumina.

Tabla 5. Estructura de los compuestos 3 y 4.



Usando la misma técnica que en el ejemplo 2, el sustrato de octapéptido sintético, que contiene el enlace peptídico glicina-isoleucina susceptible a colagenasa, se incubó (37°C) con colagenasa de neutrófilos humanos purificada cromatográficamente disponible comercialmente (MMP-8) en presencia de Ca⁺⁺ 1 mM y el fragmento de degradación de tripéptido y el sustrato sin degradar se separaron y midieron por HPLC. Se añadió compuesto 3 a diferentes concentraciones finales que oscilaban entre 5 - 500 μM y se calculó el % de inhibición de la actividad colagenasa. En este experimento, se encontró que el compuesto 3 inhibe el 50% de la actividad colagenasa (CI₅₀ ≤5 μM) a aproximadamente la mitad de la concentración requerida para el compuesto 1 (CI₅₀ = 10 μM) (figura 5).

Ejemplo 8

Inhibición *in vitro* de MMP-9

Se investigó la capacidad de 1,10-fenantrolina, curcumina, compuesto 1, compuesto 3 y compuesto 4 (véase la tabla 5) para inhibir una MMP diferente, gelatinasa de 92 kDa o MMP-9, en las mismas condiciones experimentales descritas

anteriormente para colagenasa de leucocitos humanos (MMP-8). Una vez más, el compuesto 3 mostró la CI_{50} más baja (6 μM) como inhibidor de MMP, esta vez contra MMP-9 (gelatinasa de leucocitos humanos), y de nuevo tuvo una CI_{50} más baja que 1,10-fenantrolina (9 μM). Las tres curcuminas modificadas químicamente, compuesto 1, compuesto 4 y compuesto 3, mostraron de nuevo valores de CI_{50} menores (6-17 μM) que la curcumina natural ($CI_{50} = 29 \mu M$) y este último compuesto, incluso a una concentración muy alta (100 μM) solo fue capaz de inhibir la degradación del sustrato gelatinasa en un 58%. En cambio, las tres curcuminas modificadas químicamente a una concentración final de 100 μM inhibieron la actividad gelatinasa en un 68 - 100% (figura 6 y tabla 6).

Tabla 6. Potencia de curcuminas modificadas químicamente como inhibidores de MMP-9

Compuestos de prueba	CI_{50} (μM)	Inhibición máxima a 100 μM de compuesto
1,10-fenantrolina	9	100%
Curcumina	29	58%
Compuesto 1	16	72%
Compuesto 4	17	100%
Compuesto 3	6	68%

Ejemplo 9

Evaluación del compuesto 1 *in vivo*

Se investigó el compuesto 1 (metoxicarbonilcurcumina) adicionalmente *in vivo* en el modelo de rata diabética deficiente en insulina, descrito en el ejemplo 6. En un estudio, se distribuyeron 16 ratas Sprague-Dawley macho (aproximadamente 375 g de peso corporal) en tres grupos experimentales: controles no diabéticos (grupo de NDC; n = 4 ratas); las ratas se volvieron diabéticas mediante inyección de estreptozotocina (70 mg/kg), luego, 2 semanas después, se administró vehículo (carboximetilcelulosa) solo una vez/día mediante sonda nasogástrica durante 7 días (grupo de UD; n = 6); y a las ratas diabéticas se les administró por vía oral una vez/día durante 7 días compuesto 1 (100 mg/kg) suspendido en el vehículo (D + compuesto 1; n = 6). Tal como se esperaba, las ratas diabéticas eran gravemente hiperglucémicas en comparación con el grupo de NDC (> 500 mg/dl de glucosa en suero frente a <200 mg/dl) y la administración oral del compuesto 1 a las ratas diabéticas no tuvo ningún efecto sobre la gravedad de la hiperglucemia (figura 7A). Sin embargo, cuando se examinaron los niveles de gelatinasa en plasma mediante zimografía de gelatina y se midieron las zonas líticas mediante análisis densitométrico, tanto MMP-2 (gelatinasa de 72 kDa o gelatinasa A) como MMP-9 (gelatinasa de 92 kDa o gelatinasa B) estaban elevadas en las ratas UD en comparación a las NDC, y la administración oral de compuesto 1 redujo los niveles excesivos de MMP hasta niveles esencialmente normales (figura 7B) a pesar de la hiperglucemia grave continua (figura 7A). Se observó un patrón similar para la colagenasa-2 (MMP-8) en extractos de muestras de piel de los tres grupos, NDC, UD y D + compuesto 1 (figura 8). Estos últimos ensayos se llevaron a cabo usando análisis de inmunotransferencia de tipo Western con anticuerpos monoclonales frente a MMP-8.

También es de interés en este experimento de tratamiento a corto plazo (2 semanas de diabetes sin tratamiento, seguido por 1 semana de tratamiento oral con compuesto 1), los acontecimientos adversos diabéticos (AE) (tabla 7) parecían ser paralelos a los cambios, descritos anteriormente, en plasma y piel. Las ratas UD mostraron la mayor incidencia y gravedad de EA y el tratamiento con compuesto 1 pareció reducirlos (tabla 7).

Tabla 7. Acontecimientos adversos diabéticos: Efecto del compuesto 1

Grupo experimental (n.º de ratas por grupo)	Incidencia de acontecimientos adversos (AE)	Descripción de AE
NDC (n=4)	0/4	Ninguno
UD (n=6)	3/6	Hemorragia de la nariz y bajo las uñas; esclerótica inflamada; excesivas lágrimas
D más compuesto 1 (n=6)	1/6	Inflamación menor de la esclerótica

Ejemplo 10

Evaluación del compuesto 1 *in vivo*

En un segundo estudio *in vivo* que sometió a prueba el compuesto 1 administrado por vía oral, se establecieron cuatro grupos de ratas (6 ratas/grupo) incluyendo controles no diabéticos (grupo de NDC), ratas diabéticas a las que se les

- administró por vía oral vehículo (carboximetilcelulosa) solo una vez/día durante 3 semanas y ratas diabéticas a las que se les administró por vía oral una dosis oral menor (100 mg/kg) o mayor (500 mg/kg) de compuesto 1 diariamente a lo largo del período de 3 semanas. Al final del protocolo de tratamiento, se sacrificaron las ratas, se recogieron muestras de sangre y se diseccionó la piel entera (excepto las extremidades superiores) y la encía (la piel, debido a la gran cantidad de tejido, se analizó para cada rata por separado; la encía, debido a las pequeñas cantidades que podían recogerse por rata, se agruparon para cada grupo experimental, tal como se prescribió previamente para los estudios de tetraciclina (30). Además, se recogieron los huesos de la mandíbula, se descarnaron y la pérdida ósea alrededor de los dientes se analizó morfológicamente tal como se describió anteriormente (42, 43).
- 5 Similar al experimento *in vivo* del ejemplo 9 descrito anteriormente, la inducción de diabetes con estreptozotocina aumentó drásticamente la glucosa en sangre (así como los niveles de hemoglobina A1c) y la administración oral del compuesto 1, tanto a las dosis más bajas (100 mg/kg) como a las más altas (500 mg/kg), no tuvo un efecto significativo sobre estos marcadores de diagnóstico de la gravedad de la diabetes/hiperglucemia (figura 9).
- 10 Cuando se extrajeron los grupos de encías de los diferentes grupos de ratas, se purificaron parcialmente mediante precipitación con sulfato de amonio, y se examinaron los niveles de gelatinasa (MMP-2 y MMP-9) mediante zimografía de gelatina (figura 10), la encía de NDC presentó solo proformas de 72 kDa y formas activadas de peso molecular inferior de MMP-2 (gelatinasa A) que generalmente se producen en la encía (y la piel; figura 12) por fibroblastos y células epiteliales. Sin embargo, la inducción de diabetes e hiperglucemia dio como resultado la aparición de gelatinasa de 92 kDa en los tejidos gingivales (es decir, MMP-9 o gelatinasa B), que está asociada lo más a menudo con células inflamatorias. Esta aparición de MMP-9 solo en la encía (figura 10), pero no en la piel (figura 12) de las ratas diabéticas, es probablemente el resultado de que las bacterias orales que inducen inflamación en la encía de estas ratas UD inmunosuprimidas, mientras que la piel no está expuesta a este ataque de bacterias, particularmente las bacterias anaerobias Gram-negativas en la boca que provocan inflamación periodontal y gingival. De importancia, cuando las ratas diabéticas se trataron mediante la administración oral de compuesto 1, tanto las dosis más bajas (100 mg/kg) como las más altas (500 mg/kg) redujeron MMP-9 hasta los niveles indetectables observados en la encía de las ratas de control (NDC). Sin embargo, ni la diabetes ni el compuesto 1 parecía tener un efecto detectable sobre las formas pro y activada de MMP-2 en la encía (figura 10).
- 15 Cuando un mediador inflamatorio clave en la encía, la citocina IL-1 β , se midió por ELISA en los extractos parcialmente purificados de este tejido oral (la encía), se observó un patrón similar (figura 11). La diabetes aumentó los niveles de IL-1 β en la encía en un 430% en comparación con el nivel observado en la encía de NDC, y la dosis oral más alta de compuesto 1 redujo esta citocina en un 95% en comparación con el alto nivel de IL-1 β observado en la encía de ratas UD. La dosis más baja de compuesto 1 parecía reducir IL-1 β en aproximadamente un 18%. Con respecto al efecto de este compuesto sobre las rutas de señalización celular, que pueden modular la expresión de citocinas proinflamatorias tales como IL-1 β , los compuestos de la presente invención, incluyendo el compuesto 1, puede inhibir la fosforilación/activación de NF κ B en monocitos humanos.
- 20
- 25
- 30
- 35

Ejemplo 11

40 Efecto del compuesto 1 sobre la pérdida de hueso alveolar

Se evaluó la pérdida de hueso alveolar (el acontecimiento patológico característico en la enfermedad periodontal inflamatoria) en las mandíbulas descarnadas de ratas no tratadas y tratadas con compuesto 1 (TX). Los resultados se resumen en la figura 13.

45

Brevemente, se observó poca o ninguna diferencia en la pérdida ósea al comparar las mandíbulas de ratas diabéticas no tratadas y no diabéticas no tratadas (se ha observado una pérdida ósea potenciada en ratas diabéticas previamente cuando la duración de la hiperglucemia fue mayor que el experimento de 3 semanas descrito en el presente documento). En este sentido, ambos grupos de ratas no tratadas mostraron puntuaciones de pérdida de hueso alveolar de aproximadamente 1,5 (véase la figura 13). En cambio, cuando a las ratas diabéticas se les administró por vía oral compuesto 1, la dosis más baja (100 mg/kg) produjo aproximadamente una reducción del 60%, estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en la pérdida ósea en comparación con los grupos no tratados, mientras que la dosis oral muy alta (500 mg/kg) fue menos eficaz.

50

55

Estos datos indican que la administración oral del compuesto 1 puede ser eficaz para reducir mediadores inflamatorios y destructores de tejido de la enfermedad periodontal en este modelo de rata de diabetes. Los extractos de la piel no presentaban MMP-9, solo MMP-2 (zimografía de gelatina), y el nivel elevado de MMP-2 (evaluado por ELISA) en la piel de las ratas UD se redujo en un 28% después del tratamiento tanto con dosis bajas como altas del fármaco de prueba.

60

La dosis más baja de compuesto 1 es más segura y más eficaz que la dosis más alta, y el vehículo de carboximetilcelulosa, en lugar de la N-metilglucamina (esta última es más eficaz para solubilizar el compuesto 1) es mejor para las ratas diabéticas porque la glucamina puede afectar adversamente al metabolismo de la glucosa de estos animales.

65

Ejemplo 12

5 *Evaluación del compuesto 1 sobre la liberación de lactato deshidrogenasa inducida por peróxido de hidrógeno y la actividad de caspasa-3 mediada por doxorubicina en miocitos cardíacos de rata neonatal*

Sistema de prueba: Miocitos ventriculares de rata neonatal

10 Compuestos de prueba y concentraciones (inhibidores de MMP, MMPi):

1. GM-6001:	10 μ M
2. ONO-4817:	10 μ M
3. Compuesto 1:	10 μ M

Los compuestos se prepararon de manera reciente en DMSO (Sigma) y la concentración final de DMSO no superó el 0,1%. En estudios piloto, DMSO al 0,1% no tuvo ningún efecto sobre ninguno de los parámetros investigados.

15 Ensayos:

1. *Liberación de lactato deshidrogenasa (LDH)*

20 Se trataron miocitos ventriculares de rata neonatal, privados de suero durante 24 h, con los inhibidores 1 h antes de la adición de 100 μ M de peróxido de hidrógeno (Sigma). La liberación de LDH en los medios condicionados se cuantificó usando el reactivo de integridad de membrana homogénea CytoTox-ONE (Promega) en los puntos de tiempo indicados.

25 2. *Actividad de caspasa-3*

25 Se trataron miocitos ventriculares de rata neonatal, privados de suero durante 24 h, con los inhibidores 1 h antes de la adición de 500 nM de doxorubicina (Sigma). En los puntos de tiempo indicados, se lavaron las células con solución salina tamponada con fosfato enfriada con hielo y se lisaron usando tampón RIPA (Pierce) que contenía inhibidores de fosfatasa y proteasa (Sigma). La actividad de caspasa-3 en los lisados celulares se midió mediante incubación con 7-amino-4-trifluorometilcumarina (Enzo).

30 La liberación de LDH inducida por peróxido de hidrógeno (100 μ M) se atenuó significativamente por el compuesto 1 a las 6 h (32904 ± 3237 peróxido de hidrógeno frente a 24286 ± 930 compuesto 1, $p < 0,05$, ANOVA de una vía seguido por prueba *a posteriori* de Dunnett) (figura 14). Se observó un efecto menos drástico del compuesto 1 sobre la liberación de LDH a las 24 h (figura 15). Otros inhibidores de MMP (GM-6001 u ONO-4817) no afectaron a la liberación de LDH a las concentraciones sometidas a prueba en las condiciones experimentales actuales.

35 Ninguno de los inhibidores de MMP, incluyendo el compuesto 1, modula negativamente la actividad de caspasa-3 mediada por doxorubicina (500 nM) en cualquiera de los puntos de tiempo a las concentraciones sometidas a prueba en las condiciones experimentales actuales (figuras 16 y 17).

Ejemplo 13

45 *Efecto del compuesto 1 sobre la enfermedad inflamatoria y la degradación tisular.*

45 Se recogieron núcleos de grosor completo de cartílago articular bovino [4 mm de diámetro] y se equilibraron en cultivo tisular durante 48 horas antes de cualquier manipulación. Todos los tapones de cartílago se incubaron entonces con sulfato marcado con S-35 en los medios durante 24 horas para marcar todas las moléculas de agregano de una manera en estado estacionario. Los tapones de cartílago se asignaron entonces a uno de los siguientes grupos:

50 control, con medios normales, control con medios que contienen interleucina 1 beta [IL-1 β , 10 ng/ml]. IL-1 es una citocina que es común para las células inflamatorias y está presente en entornos inflamatorios. La exposición del cartílago a IL-1 da como resultado un proceso degradativo que conduce a la pérdida de moléculas de agregano, que son un componente importante de la matriz responsable de mantener las propiedades mecánicas del tejido. La pérdida de agregano se refleja en la cantidad de marcador de S-35 presente en los medios después de la exposición a IL-1.

55 La exposición a IL-1 es un método indirecto para imitar la osteoartritis. Los otros grupos consistieron en tapones de cartílago que contenían uno de varios derivados novedosos de curcumina [10 μ m] - compuesto 1 y compuesto 5 (tabla 5). Estos también se incubaron con IL-1 β .

60 Los resultados a las 24 horas mostraron una disminución significativa en la pérdida de agregano, reflejada por el S-35 presente en los medios por todos los tapones de cartílago tratados con los compuestos experimentales. El cartílago tratado con IL-1 de control demostró una pérdida significativa de agregano en comparación con los compuestos

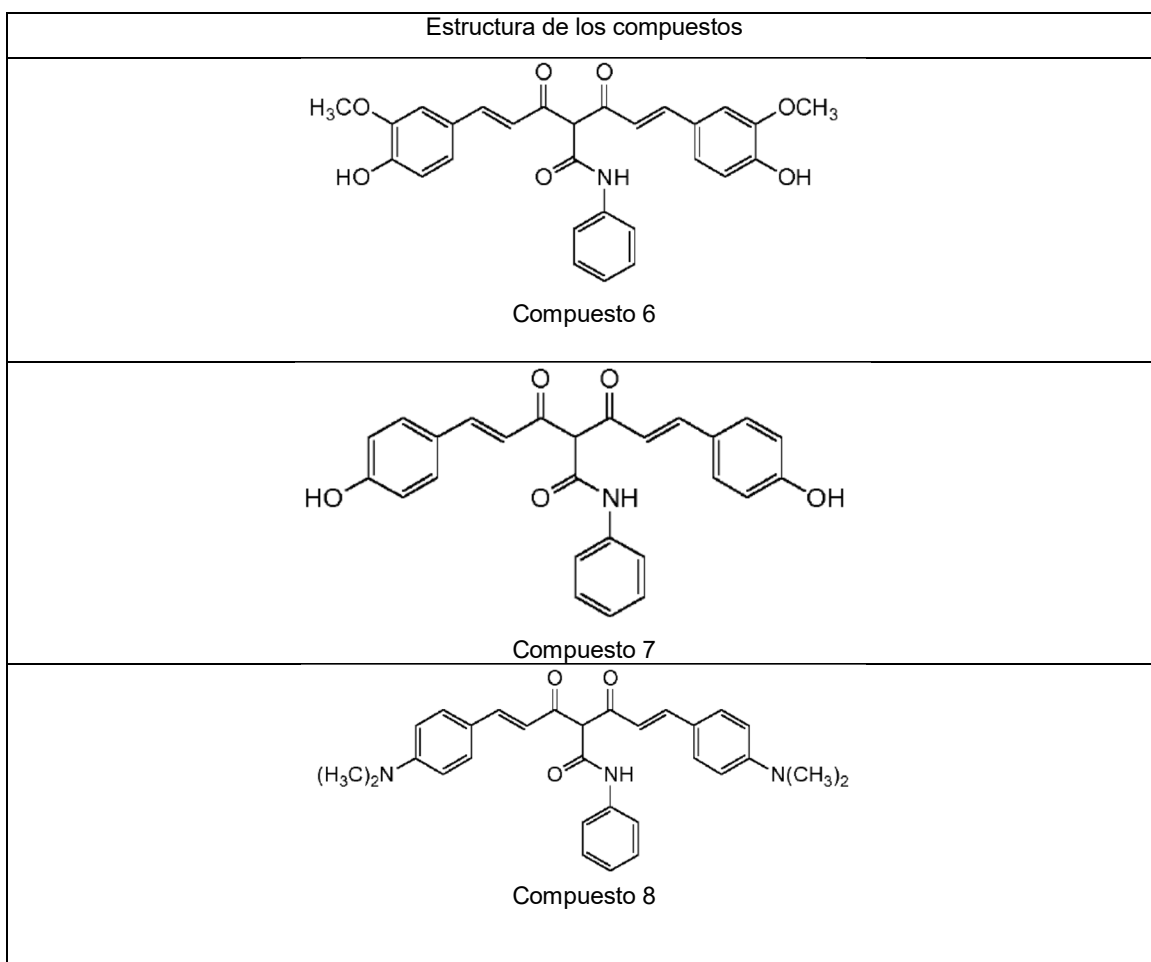
experimentales y el control de medio solo (figura 18). Las mismas tendencias continuaron durante 48 y 72 horas (figuras 19 y 20). También se observaron las mismas tendencias para 24 horas de pretratamiento + 24 horas de tratamiento (figura 21 y 22).

5 Ejemplo 14

Actividad inhibitoria de MMP de derivados de curcumina que contienen amida

10 Se han sintetizado curcuminas modificadas químicamente que tienen un grupo carbonil-amida-fenol en el carbono 4 y presentan una mayor solubilidad que la curcumina. Se sometieron a prueba estas curcuminas modificadas químicamente que contienen amida para determinar su capacidad para inhibir MMP purificadas cromatográficamente, MMP-2 y MMP-13, usando el mismo ensayo descrito previamente en el ejemplo 2, es decir, la degradación del octapéptido sintético, susceptible a MMP y la medición del fragmento de degradación de tripéptido y sustrato residual por HPLC (37°C, Ca⁺⁺ 1 mM). Tal como se muestra en la tabla 9, la curcumina fue menos potente como inhibidor de MMP-2 que el agente quelante de Zn, 1,10-fenantrolina (Cl₅₀ más alta, y menos actividades inhibitoras a una concentración de 100 μM). El compuesto 1 (basándose en la eficacia, *in vitro*, cultivo celular e *in vivo*) fue de nuevo más potente como inhibidor de MMP (esta vez frente a MMP-2, mostrando la razón de Cl₅₀ más baja: compuesto de prueba frente a patrón (razón = 0,7) e inhibiendo la actividad de MMP-2 en un 78% a una concentración de 100 μM.

20 Tabla 8. Estructura de compuestos de curcumina que contienen amida



En cambio, los compuestos 4 y 3, que no son compuestos de amida pero que mostraron una potencia excelente como inhibidores de MMP-9 en el ejemplo 8, mostraron niveles muy diferentes de eficacia contra MMP-2 (tabla 9).

25

Tabla 9. Potencia inhibitora de MMP de derivados de curcumina que contienen amida

Compuesto sometido a prueba	MMP-2		MMP-13	
	Razón*	Inhibición máxima a 100 μM	Razón*	Inhibición máxima a 100 μM

1,10-Fenantrolina (patrón)	1,0	60%	1,0	100%
Curcumina	1,2	54%	27,5	53%
Compuesto 1	0,7	78%	3,8	69%
Compuesto 4	>3,6	36%	62,5	50%
Compuesto 3	1,0	60%	2,0	76%
Compuesto 6 ⁺⁺	1,2	53%	<0,3	100%
Compuesto 7 ⁺⁺	1,8	45%	<0,3	77%
Compuesto 8 ⁺⁺	---	---	11,3	53%
⁺⁺ Derivados de curcumina que contienen amida [*] Razón=Cl ₅₀ de compuesto de prueba/Cl ₅₀ de patrón				

El compuesto 4 era menos eficaz que el patrón, 1,10-fenantrolina, mientras que el compuesto 3 era igual en eficacia a 1,10-fenantrolina. De los tres compuestos que contienen amida sometidos a prueba, los compuestos 6, 7 y 8, la eficacia de inhibición de MMP-2 era tal como sigue: compuesto 6 > compuesto 7 > compuesto 8. Aunque el compuesto 6 mostró una eficacia similar a la curcumina cuando se compara la potencia inhibidora de MMP-2, los compuestos que contienen amida son mucho más solubles que la curcumina reconocidamente insoluble.

Los derivados de curcumina que contienen amida son inhibidores mucho más potentes de MMP-13 (colagenasa-3) que la curcumina e incluso más potentes que el compuesto 1 (tablas 9 y 10).

Debe indicarse que las tetraciclinas, que dieron como resultado dos fármacos aprobados por la FDA para enfermedades inflamatorias crónicas, eran muy eficaces como inhibidores de MMP-9 y MMP-13 y mucho menos eficaces contra MMP-2 (véanse Brown *et al*, 2004; Sorsa *et al*). Los compuestos 1, 6 y 7 se ajustan a un perfil de este tipo (tabla 10) y, por tanto, se espera que sean eficaces para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas.

Tabla 10. Concentración de derivados de curcumina requerida para inhibir el 50% de la actividad enzimática (valores de Cl₅₀)

Compuesto sometido a prueba	Valores de Cl ₅₀ (μM; Inhibición de diferentes MMP)	
	MMP-2 (μM)	MMP-13 (μM)
1,10-Fenantrolina	70	4
Curcumina	85	110
Compuesto 1	48	15
Compuesto 4	>250*	250
Compuesto 3	70	8
Compuesto 6 ⁺⁺	85	<1
Compuesto 7 ⁺⁺	125	<1
Compuesto 8 ⁺⁺	No medible*	45
⁺⁺ compuestos que contienen amida más solubles [*] evidencias de precipitación		

Ejemplo 15

Evaluación de compuesto 1 en un modelo de cultivo celular de cáncer

El compuesto 1 se evaluó en un modelo de cáncer de cultivo celular. En resumen, se incubaron células de cáncer de próstata humano PC-3 en medios libres de suero durante 48 h (37°C, pH 7,6) en presencia o ausencia de EGF y se añadió compuesto 1 a los cultivos a una concentración final de 0, 10 y 20 μM. Después de la incubación, se analizaron alícuotas de los medios acondicionados para determinar MMP-9 (gelatinasa B) mediante cualquiera de dos técnicas, zimografía de gelatina (en presencia de Ca⁺⁺ 2 o 10 mM) e inmunotransferencia de tipo Western (ambos ensayos usaron MMP-9 purificada, gelatinasa de 92 kDa, como patrón). Tal como se muestra en las figuras 23-25, las

concentraciones de compuesto 1 10 μM y 20 μM inhibieron la producción y/o actividad de MMP-9 generado por las células de cáncer de próstata humano.

Discusión

Aunque se han realizado investigaciones para mejorar la curcumina a través de la síntesis de análogos y derivados basados en curcumina (14-18), los esfuerzos previos no apreciaron que la instalación de un grupo atractor de electrones en el carbono C-4 (véase la figura 1) de la curcumina y sus análogos mejora varias características farmacológicamente importantes de tales compuestos.

Tal como se mencionó anteriormente, la actividad biológica de la curcumina y sus análogos se atribuye a su capacidad para acceder y unirse a iones de zinc. El descubrimiento de la mejora de la afinidad de unión al zinc a través de la instalación de grupos donadores de electrones y atractores de electrones en ubicaciones estratégicas, concretamente, el carbono C-4 y los anillos de arilo, en el esqueleto de curcumina, es importante para mejorar la actividad biológica. En particular, se muestra que la incorporación de un grupo atractor de electrones en el carbono C-4 es esencial para la mejora de la afinidad de unión al zinc, lo que conduce a una mejora en la actividad biológica.

El trabajo publicado que examinó compuestos análogos de la curcumina que tienen un grupo atractor de electrones indicó efectos contrapuestos de un grupo de este tipo. Lin y colaboradores notificaron una menor citotoxicidad (mayor CI_{50}), es decir, una reducción de la actividad, con un análogo de la curcumina que tiene un grupo acetilo en la posición C-4 (compuesto 49 en la referencia 10) en comparación con la de la curcumina (compuesto 1 en la referencia 14) cuando se sometieron a prueba contra células de cáncer de próstata humano (14). Por el contrario, Shih *et al.* notificaron una expresión reducida del receptor de andrógenos (AR) dentro de las células cancerosas, es decir, una mayor citotoxicidad, con un análogo de dimetilcurcumina que tiene un resto fenilpropenal sustituido (compuesto ASC-JM4 en la referencia 11b) a bajas concentraciones en comparación con dimetilcurcumina (compuesto ASC-J9 en la referencia 15b). Sin embargo, Shih *et al.* no publicaron sobre curcuminas adicionales que tengan otros sustituyentes en el carbono C-4. Estos estudios indican que los investigadores no han apreciado la importancia de un grupo atractor de electrones en el carbono C-4 de la curcumina y sus análogos.

Tal como se describe en el presente documento, la colocación de un grupo atractor de electrones en el carbono C-4 de curcumina y análogos de curcumina confiere varias ventajas, tales como mejora de la solubilidad en agua, capacidad mejorada de unión a metales y actividad biológica mejorada en comparación con la curcumina. Sin desear limitarse a la teoría, se cree que la presencia de un grupo atractor de electrones en la posición C-4 de curcumina y análogos de curcumina estabiliza la forma enólica del compuesto, así como el enolato formado a partir de la desprotonación en el carbono C-4, facilitando de ese modo la solubilidad en agua y la quelación de cationes metálicos, tales como Zn^{2+} , por el enolato de curcumina resultante. En consecuencia, otros análogos de curcumina que tienen grupos atractores de electrones en el carbono C-4 presentan tales propiedades y funcionan de manera similar.

Los compuestos de la invención objeto se someten a prueba y presentan actividad consecuente con la de los ejemplos anteriores.

Específicamente, los compuestos de la presente invención son útiles para la inhibición de la actividad de metaloproteinasas de la matriz, así como la inhibición de tanto la producción de citocinas como la activación de $\text{NF}\kappa\text{B}$ *in vivo* e *in vitro*, y son útiles para tratar patologías en sujetos que surgen de la actividad de metaloproteinasas de la matriz, la actividad de factores de crecimiento, la producción de citocinas y/o la activación de $\text{NF}\kappa\text{B}$.

Aunque a lo largo de los años se han desarrollado numerosos agentes experimentales con una potencia excelente como inhibidores de colagenasas (MMP-1, MMP-8 y MMP-13) y otras MMP (por ejemplo, las gelatinasas, MMP-2 y MMP-9; las estromelisin, MMP-3 y MMP-10) (8), el único fármaco inhibidor de MMP (MMPI) aprobado por la FDA de los EE.UU. y las agencias reguladoras en Europa y Canadá es una formulación NO ANTIBIÓTICA de doxiciclina (doxiciclina de dosis subantimicrobiana, SDD) denominada Periostat® comercializada para el tratamiento de la más común de todas las enfermedades inflamatorias crónicas, periodontitis, que implica la destrucción de colágeno y otros tejidos conjuntivos en la encía, el ligamento periodontal y el hueso, tal como se mencionó anteriormente (4). Oracea®, una SDD de liberación sostenida, también administrada de manera sistémica por vía oral, fue aprobada recientemente por la FDA de los EE.UU. y en Europa para el tratamiento de un estado inflamatorio crónico de la piel, la rosácea.

Varios factores explican, al menos en parte, esta dificultad para llevar los fármacos de MMPI a la aplicación clínica: (1) Se reconoce que las MMP desempeñan un papel en diversos procesos fisiológicos (no solo patológicos), tales como el procesamiento de citocinas y quimiocinas antiinflamatorias, así como la modulación de factores de crecimiento o receptores de superficie celular, y la regulación de la proliferación celular y las respuestas apoptóticas e inmunitarias (2, 3, 27). Por tanto, el objetivo de la terapia con MMPI debe ser amortiguar o modular los niveles patológicos de las MMP, NO inhibirlas excesivamente (2, 4, 27); y (2) basándose en la experiencia anterior con SDD y otras estrategias de desarrollo de fármacos, puede ser deseable modificar químicamente compuestos que incorporan los mismos o similares sitios activos para la inhibición de MMP, que se derivan de agentes con una larga historia de seguridad en seres humanos ya que, para enfermedades crónicas, es probable que tengan que administrarse durante largos períodos de tiempo. Teniendo en cuenta los fármacos de MMPI, Periostat® y Oracea®, estos se basaron en el fármaco

bien conocido doxiciclina, una tetraciclina cuya dosis se disminuyó deliberadamente hasta concentraciones subantimicrobianas en la circulación, tras la administración oral, de modo que no produjeran efectos secundarios antibióticos durante la administración a largo plazo, pero que conservaría el sitio de unión a Ca^{++} y Zn^{++} en el carbono 11 y el carbono 12 para inhibir las colagenasas y gelatinasas, así como otros beneficios pleiotrópicos de esos fármacos (véase la referencia 4 para su revisión). Sin embargo, debido a la preocupación por los efectos secundarios de todas las tetraciclinas, incluyendo la doxiciclina, solo un intervalo estrecho (tal vez subóptimo) de niveles sanguíneos no antimicrobianos del fármaco (por ejemplo, 0,3-0,8 $\mu\text{g/ml}$) podría considerarse terapéuticamente útil debido a la preocupación por la aparición de bacterias resistentes a antibióticos a niveles sanguíneos más altos (y otras preocupaciones, tales como una mayor sensibilidad a las quemaduras solares).

La capacidad de regular por disminución la producción y actividad de MMP, pero no de inhibir estas enzimas por completo, tiene un impacto significativo sobre diversas enfermedades que son afecciones crónicas, particularmente en adultos y grupos de mayor edad. Tal como se describe en el presente documento, los compuestos y las composiciones de la presente invención inhiben la producción de una variedad de citocinas proinflamatorias (por ejemplo, IL-1 β , TNF α , IL-6) que también son participantes clave en la patogénesis de estas enfermedades crónicas. Estas enfermedades incluyen, pero no se limitan a, cicatrización de heridas alterada y otros estados de la piel (por ejemplo, psoriasis (44)), periodontitis, artritis, enfermedad cardiovascular, osteoporosis, síndrome de dificultad respiratoria aguda y cáncer. El desarrollo de un modulador eficaz no tóxico de MMP y citocinas constituye un avance significativo en farmacoterapéutica. En el presente documento, se muestran la seguridad y eficacia de los compuestos de la presente invención *in vivo* en complicaciones diabéticas en la piel (por ejemplo, envejecimiento/atrofia de la piel), y en la enfermedad gingival inflamatoria y pérdida ósea periodontal, y en modelos de cultivo celular y tisular de artritis y disfunción de miocitos cardíacos y MMP producidas por células de cáncer de próstata.

Usando un modelo de rata diabética tipo I gravemente hiperglucémica, que produce niveles aumentados de MMP y citocinas proinflamatorias en comparación con controles no diabéticos, se ha encontrado que la administración oral del compuesto 1: (i) reduce MMP-2 y MMP-9 en plasma, (ii) reduce MMP-2 y MMP-8 en la piel y (iii) reduce MMP-9 e IL-1 β en la encía. Además, la administración oral del compuesto 1 también redujo la pérdida de hueso alveolar patológica que, junto con las MMP y citocinas elevadas, es un acontecimiento característico tanto en la diabetes como en la periodontitis. Todos estos efectos beneficiosos estaban acompañados por una mejora aparente en los acontecimientos adversos producidos por el estado diabético grave. Mejoraron las complicaciones diabéticas, no la gravedad de la diabetes *per se*.

Bibliografía

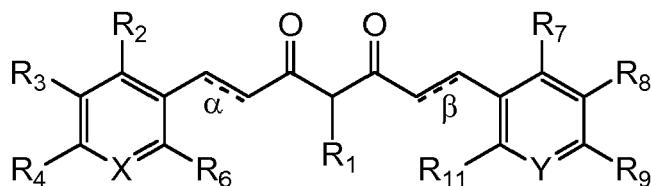
1. Gross J y Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. Proc. Natl. Acad. Sci., 48: 1014-1022, 1962.
2. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, Lauhrio A, *et al.* Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment for periodontal inflammation. Ann. Med., 38: 306-321, 2006.
3. Roy R, Yang J y Moses MA. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. J. Clin. Oncol., 27: 5287-5297, 2009.
4. Golub *et al.* (1998) "Tetracyclines Inhibit Connective Tissue Breakdown by Multiple Non-Antimicrobial Mechanisms" Adv. Dent. Res., 12, págs. 12-26.
5. Close, DR. (2001) "Matrix metalloproteinase inhibitors in rheumatic diseases." Ann. Rhuem. Dis., 60, págs. iii62-iii67.
6. (a) Dove, A. (2002) "MMP inhibitors: Glimmers of hope amidst clinical failures." Nature Med., 8(2), p. 95. (b) Trivedi NR, Gilliland KL, Zhao WL, *et al.* (2006). Gene Array expansion profiling in acne lesions reveals marked upregulation of genes involved in inflammation and matrix remodeling. Journal of Invest. Derm. 126(5): 1071-1079; (c) Papakonstantinov E, Aletius AJ, Glass E, *et al.* (2005). Matrix Metalloproteinases of epithelial origin in facial sebum of patients with acne and their regulation by isotretinoin. Journal of Invest. Derm 125(4):673-684.
7. Borkakoti, N. (2004) "Matrix metalloprotease inhibitors: design from structure." Biochem Soc. Trans., vol. 32, parte 1, págs. 17-20.
8. Peterson, JT. (2006) "The importance of estimating the therapeutic index in the development of matrix metalloproteinase inhibitors." Cardio. Res., 69, págs. 677-687.
9. Bachmeier, BE, *et al.* (2008) "Curcumin downregulates the inflammatory cytokines CXCL1 and -2 in breast cancer cells via NF κ B." Carcinogenesis, 29(4), págs. 779-789.
10. Kaur, G, *et al.* (2006) "Inhibition of oxidative stress and cytokine activity by curcumin in amelioration of endotoxin-induced experimental hepatotoxicity." Clin. Exp. Immunol., 145, págs. 313-321.

11. Begum, AN, *et al.* (2008) "Curcumin structure-function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and Alzheimer's disease." *J. Pharm. Exp. Ther.*, 326(1), págs. 196-208.
- 5 12. Banerji, A, *et al.* (2004) "Effect of curcumin on gelatinase A (MMP-2) activity in B16F10 melanoma cells." *Cancer Lett.*, 211(2), págs. 235-242.
13. Woo, M.-S., *et al.* (2005) "Curcumin suppresses phorbol ester-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting the PKC to MAPK signaling pathways in human astrogloma cells." *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 335, 1017-1025.
- 10 14. Lin, L, *et al.* (2006) "Antitumor Agents. 250. Design and Synthesis of New Curcumin analogues as Potential Anti-prostate cancer Agents." *J. Med. Chem.*, 49(13), págs. 3963-3972.
- 15 15. a) Lee *et al.* Patente estadounidense 7.355.081; b) Shih *et al.* Publicación de solicitud internacional PCT WO 2008/085984.
16. Safavy *et al.* Publicación de solicitud de patente internacional PCT WO 2008/051474.
- 20 17. Van Der Jagt *et al.* Publicación de solicitud de patente estadounidense 2006/0276536.
18. Pandol *et al.* Patente estadounidense 7.060.733.
- 25 19. Baum, L; Ng, A. (2004) "Curcumin interaction with copper and iron suggests one possible mechanism of action in Alzheimer's disease animal models." *Journal of Alzheimer's Disease*, 6(4), págs. 367-377.
20. Heng, M. Publicación de solicitud de patente internacional PCT WO 99/42094.
- 30 21. Singer, A. *et al.* (2007) "Curcumin Reduces Burn Progression in Rats," *Acad. Emerg. Med.*, 14, págs. 1125-1129.
22. Sidhu, GS. *et al.* (1998) "Enhancement of wound healing by curcumin in animals," *Wound Rep. Reg.*, 6, págs. 167-177.
- 35 23. Sidhu, GS. *et al.* (1999) "Curcumin enhances wound healing in streptozotocin induced diabetic rats and genetically diabetic mice," *Wound Rep. Reg.*, 7, págs. 362-374.
24. Phan, T.-T. *et al.* (2001) "Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: Its implication for wound healing," *J. Trauma*, 51, págs. 927-931.
- 40 25. Budnikova, MV; Rubinov, DB. (2001) "Synthesis of Endocyclic Enol Methyl Ethers of 3-Acylthiotetronic Acids and Their Reactions with Amines," *Russian Journal of Organic Chemistry*, 37(10), págs. 1478-1485.
26. Saito, K; Sato, T. (1978) "Diversity in the base-induced photoreactions of 3-acetyl-2,4-dioxthiolane (3-acetylthiotetronic acid)." *Chem. Lett.*, págs. 307-310.
- 45 27. Sorsa T y Golub LM. (2005) "Is the excessive inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) by potent synthetic MMP inhibitors (MMPis) desirable in periodontitis and other inflammatory diseases? That is: 'Leaky' MMPis vs excessively efficient drugs" *Oral Dis.*, 11, págs. 408-409.
- 50 28. Golub *et al.* (1996) "New therapeutic uses for an old family of drugs: travels of a dental researcher from the lab to the university's office of technology transfer and beyond." *Technol. Health Care*, 4, págs. 311-316.
29. Liu *et al.* (2001) "The Lipophilicity, Pharmacokinetics, and Cellular Uptake of Different Chemically-Modified Tetracyclines (CMTs)." *Curr. Med. Chem.*, 8, págs. 243-252.
- 55 30. Yu Z *et al.* (1993) "Chemically-modified tetracycline normalizes collagen metabolism in diabetic rats: a dose-response study." *J Periodontal Res.*, 28(6 Pt 1), págs. 420-428.
31. Ryan ME *et al.* (2001) "Excessive matrix metalloproteinase activity in diabetes: inhibition by tetracycline analogues with zinc reactivity." *Curr Med Chem.*, 8(3), págs. 305-316.
- 60 32. Ryan ME *et al.* (1999) "MMP-mediated events in diabetes." *Ann N Y Acad Sci.*, 878, págs. 311-334.
33. Ramamurthy NS, Zebrowski EJ & Golub LM. (1973) "Collagenolytic activity of alloxan diabetic rat gingivae." *Diabetes*, 22, págs. 272-274.
- 65

34. Golub LM, Greenwald RA, Zebrowski EJ & Ramamurthy NS. (1978) "The effect of experimental diabetes on the molecular characteristics of rat tail tendon collagen." *Biochim. Biophys. Acta*, 534, págs. 73-81.
- 5 35. Schneir, M. y Golub, L.M. (1981) "The effect of streptozotocin diabetes on collagen metabolism." En Agarwal, M.K. (Ed.): *Streptozotocin: Fundamentals and Therapy*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, págs. 161-182.
36. Schneir M, Ramamurthy NS & Golub LM. (1985) "Dietary ascorbic acid normalized diabetes-induced underhydroxylation of nascent type I collagen molecules." *Collagen Rel. Res.*, 5, págs. 415-422.
- 10 37. Leung MK, Folkes GA, Ramamurthy NS & Golub, LM. (1986) "Diabetes stimulates procollagen degradation in rat tendon in vitro." *Biochim. Biophys. Acta*, 880, págs. 147-152.
38. Schneir M, Imberman M, Ramamurthy NS & Golub LM. (1988) "Streptozotocin-induced diabetes and the rat periodontium: Decreased relative collagen production." *Collagen Rel. Res.*, 8, págs. 221-232.
- 15 39. Schneir M, Ramamurthy NS & Golub LM. (1990) "Minocycline treatment of diabetic rats increases skin collagen production and mass." *Matrix*, 10, págs. 112-123.
40. Golub LM, Ramamurthy NS, Lee HM & Rifkin, B. (1990) Tetracycline administration prevents diabetes induced osteopenia in the rat." *Res. Commun. Chem. Path. Pharmacol.*, 68, págs. 27-40.
- 20 41. Kaneko H, Sasaki T, Ramamurthy NS & Golub LM. (1990) "Tetracycline administration normalizes the structure and acid phosphatase activity of osteoclasts in streptozotocin-diabetic rats." *Anatom. Rec.*, 227, págs. 427-436.
- 25 42. Golub LM, Evans RT, McNamara TF *et al.* A non-antimicrobial tetracycline inhibits gingival metalloproteinases and bone loss in *Porphyromonas gingivalis* - induced periodontitis in rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 732: 96-111, 1994.
- 30 43. Blankenberg, S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, Meyer J, Cambren F, Tiret L y AtheroGene Investigators. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase-9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation* 107: 1579-1585, 2003.
44. Patel RV, Clark LN, Lebwohl M, Weinberg JM. Treatment for psoriasis and the risk of malignancy. *J Am Acad Dermatol* 60(6):1001-17, 2009.
- 35 45. Bingham, S.J., Tyman, J.H.P. Improved Synthesis of Alkyl Diacetylacetates. *Organic Preparations and Procedures Int.* 33, 357-361 (2001).
46. Dieckmann, W., Hoppe, J., Stein, R. On the Behavior of 1,3-Dicarbonyl Compounds with Phenyl Isocyanate. *Chem.Ber.* 37, 4627-4638 (1904).
- 40 47. Pabon H. H. J. Synthesis of Curcumin and Related compounds. *Rec. Trav. Chim.* 83, 379-386, (1964).

REIVINDICACIONES

1. Compuesto que tiene la estructura



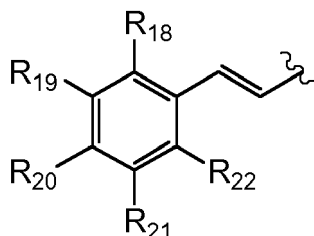
en la que

el enlace α y β están cada uno, independientemente, presentes o ausentes; X es CR₅ o N; Y es CR₁₀ o N;

R₁ es -C(O)R₁₄, -C(S)R₁₄, o -C(=NH)R₁₄,

en los que

R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, -SOR₂₃, -POR₂₃, -C(=S)R₂₃, -C(=NH)R₂₃, -C(=NR₂₄)R₂₃, -C(=N)R₂₃, -P(=O)(OR₂₃)(OR₂₄), -P(OR₂₃)(OR₂₄), -C(=S)R₂₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

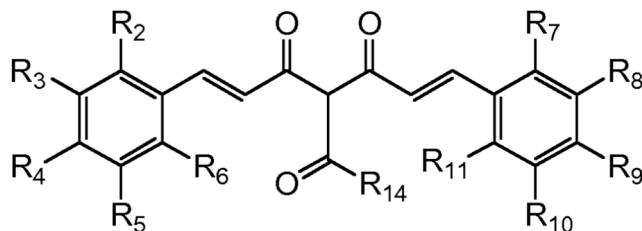
R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -NHR₂₈R₂₉⁺, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀ o -C(=O)-heterociclilo; y

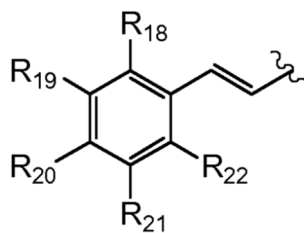
en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido con halógeno, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, fenoxilo, benciloxilo, p-trifluorometilbenciloxilo, trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, nitro, nitrosilo, mercapto, metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, ciano, amino, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino o carboxilo;

o una sal del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1 que tiene la estructura



5 en la que R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o



10 en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

15 R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

20 R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

25 en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

30 en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, o alquinilo C₂₋₁₀; y

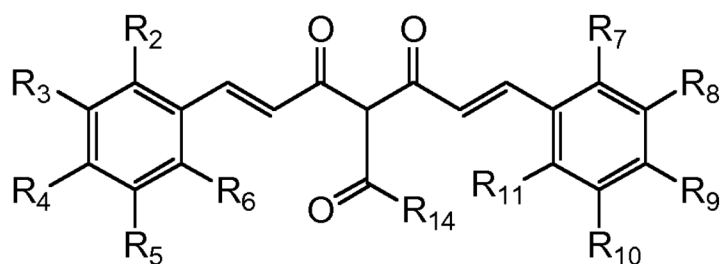
35 en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido con halógeno, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, fenoxilo, benciloxilo, p-trifluorometilbenciloxilo, trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, nitro, nitrosilo, mercapto, metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, ciano, amino, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino o carboxilo; y

40 en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

o una sal del mismo.

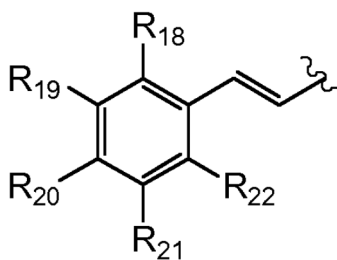
3. Compuesto según la reivindicación 2 que tiene la estructura

45



en la que R₁₄ es alquilo C₂₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, heteroarilo, heterociclilo, metoxilo, -OR₁₅, -NR₁₆R₁₇, o

5



en la que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀;

10 R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

R₁₈, R₁₉, R₂₁ y R₂₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₃R₂₄, -SR₂₃, -SO₂R₂₃, -CO₂R₂₃, -OR₂₅, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

15 en los que R₂₃, R₂₄ y R₂₅ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

20 R₂₀ es halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₆R₂₇, CF₃, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

en el que R₂₆ y R₂₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

25 R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno independientemente H, halógeno, -NO₂, -CN, -NR₂₈R₂₉, -SR₂₈, -SO₂R₂₈, -OR₂₈, -CO₂R₂₈, CF₃;

en los que R₂₈ y R₂₉ son cada uno H, CF₃, alquilo C₁₋₅, alquenilo C₂₋₅ o alquinilo C₂₋₅; y

30 en la que cada aparición de alquilo, alquenilo o alquinilo está ramificado o no ramificado, no sustituido o sustituido con halógeno, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, fenoxilo, benciloxilo, p-trifluorometilbenciloxilo, trifluorometanosulfonilo, metanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, nitro, nitrosilo, mercapto, metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, ciano, amino, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino o carboxilo; y

35 en la que al menos uno de R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ y al menos uno de R₇, R₈, R₉, R₁₀ y R₁₁ son cada uno, independientemente, -OR₂₈;

o una sal del mismo.

40

4. Compuesto según la reivindicación 2, en el que R₁₄ es metoxilo, -OR₁₅ o -NR₁₆R₁₇,

en el que R₁₅ es H, alquilo C₃₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀;

45 R₁₆ y R₁₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

o una sal del mismo, o R₁₄ es metoxilo o -NR₁₆R₁₇,

en el que R_{16} y R_{17} son cada uno, independientemente, H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo, heteroarilo o heterocicilo;

5 o una sal del mismo, o R_{14} es $-OR_{15}$, en el que R_{15} es H, alquilo C_{3-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} ; o una sal del mismo, o R_{14} es $-NR_{16}R_{17}$,

en el que R_{16} y R_{17} son cada uno, independientemente, H o arilo; $R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ y R_{11} son cada uno independientemente, H, $-NR_{28}R_{29}$ o $-OR_{28}$,

10 en el que R_{28} y R_{29} son cada uno H o alquilo C_{1-10} ;

o una sal del mismo, o

15 R_{14} es $-NH$ -fenilo;

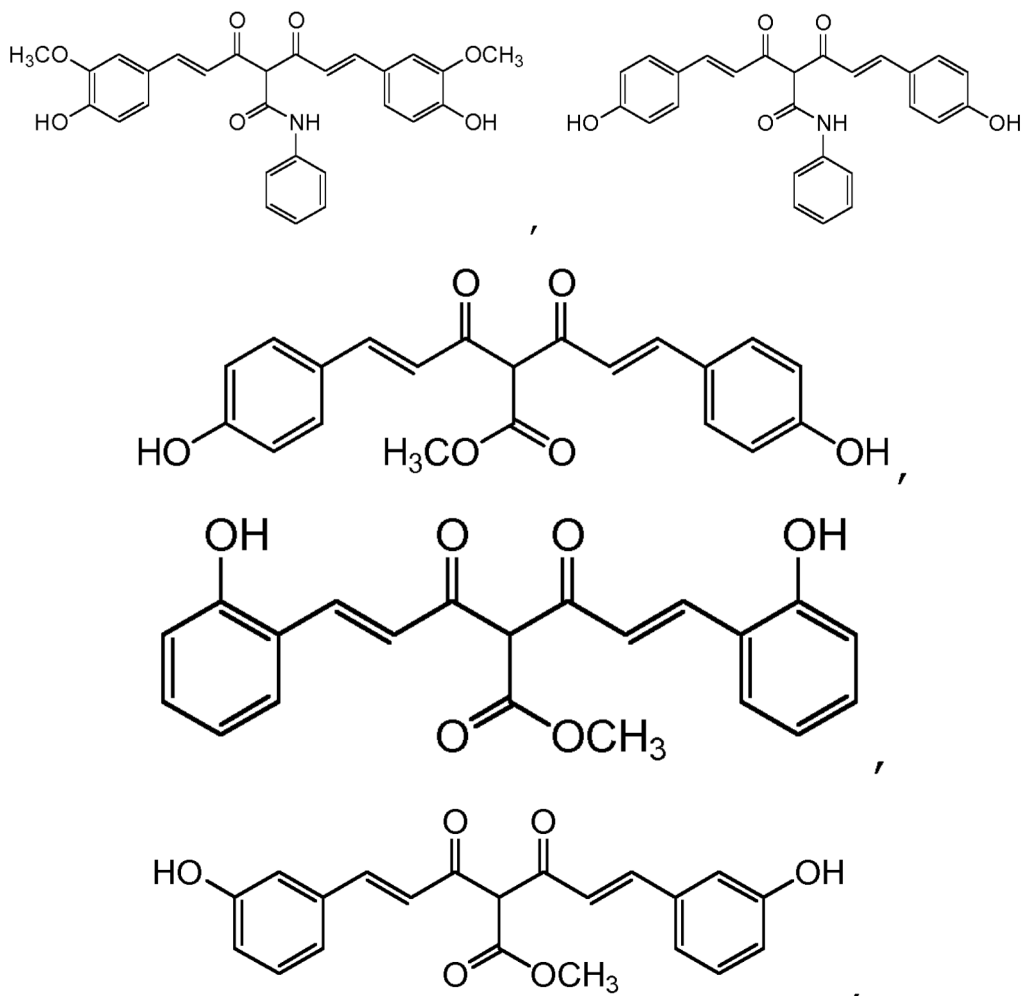
$R_2, R_5, R_6, R_7, R_{10}$ y R_{11} son cada uno H;

R_3, R_4, R_8 y R_9 son cada uno, independientemente, H, $-OH$ u $-OCH_3$; o una sal del mismo, o

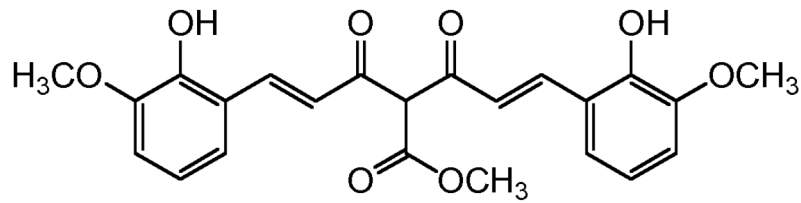
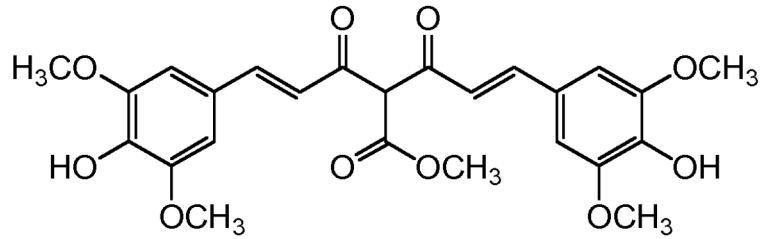
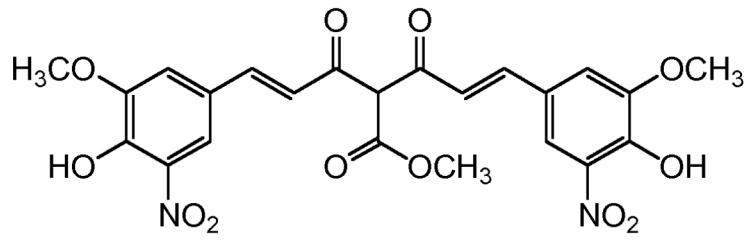
20 R_{14} es metoxilo;

$R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ y R_{11} son cada uno, independientemente, H, $-OH$, $-OCH_3$, $-NO_2$, o $-CO_2CH_3$; o una sal del mismo.

25 5. El compuesto según la reivindicación 2 que tiene la estructura:

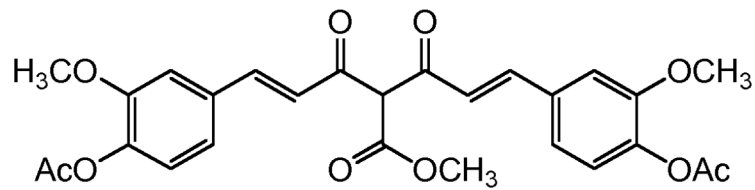


30



5

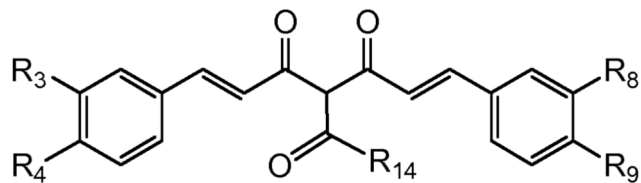
o



10

o una sal del mismo.

6. Compuesto según la reivindicación 2 que tiene la estructura



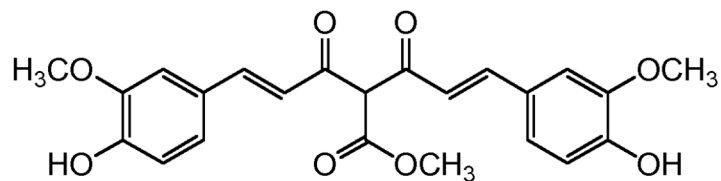
15

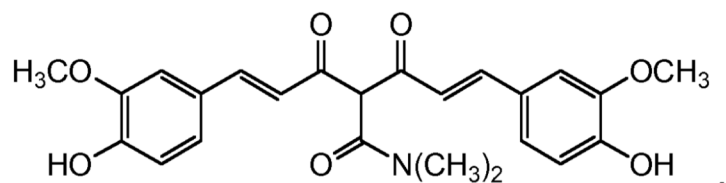
en la que R_3 , R_4 , R_8 y R_9 son H, $-OCH_3$ u $-OH$; R_{14} es metoxilo o $-N(CH_3)_2$; o una sal del mismo.

7. Compuesto según la reivindicación 2, en el que X es N; Y es N; y/o en el que α y β están ambos presentes; o una sal del mismo.

20

8. Compuesto según la reivindicación 2, que tiene la estructura





o una sal del mismo.

5 9. Compuesto según la reivindicación 1 o 2, en el que

R₁ es -COR₁₄,

en el que R₁₄ es metoxilo o -NH-fenilo;

10

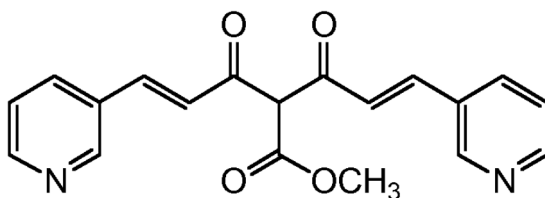
R₂, R₅, R₆, R₇, R₁₀ y R₁₁ son cada uno H;

R₃, R₄, R₈ y R₉ son cada uno, independientemente H, -OH, -OCH₃, -N(CH₃)₂ o -NH(CH₃)₂⁺;

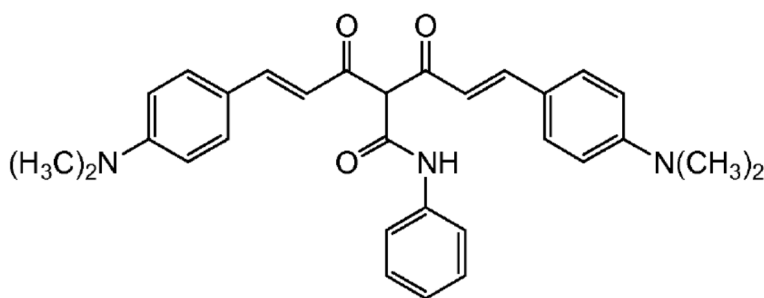
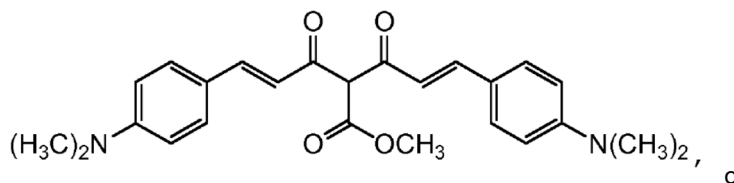
15

o una sal del mismo.

10. Compuesto según la reivindicación 1 que tiene la estructura



20



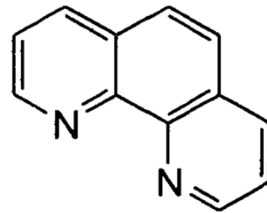
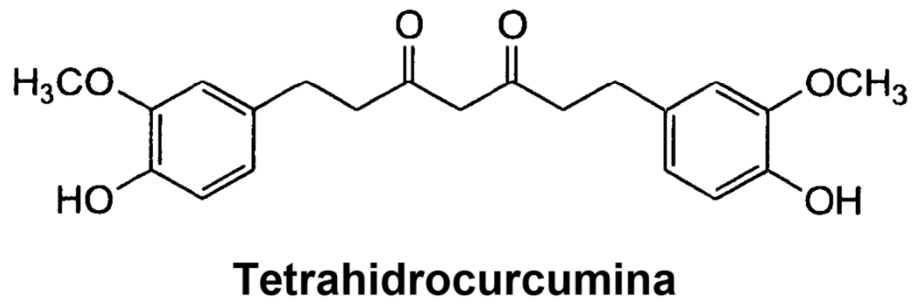
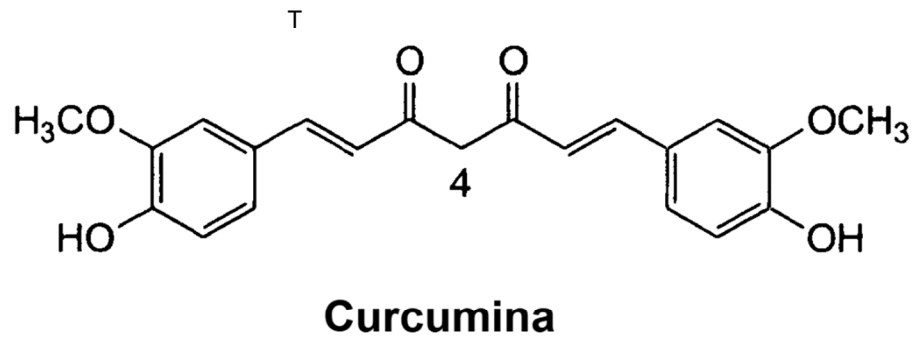
25

o una sal del mismo.

11. Composición farmacéutica que comprende el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 y un portador farmacéuticamente aceptable.

30

12. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para su uso en la inhibición de la actividad y/o los niveles de una metaloproteínasa de la matriz (MMP), o la inhibición de la producción de una citocina en una población de células de mamífero, o la inhibición de la producción de un factor de crecimiento en una población de células de mamífero, o la inhibición de la activación de NFκ-B en una población de células.



1,10-o-fenantrolina
(4,5-diazafenantreno)

Figura 1

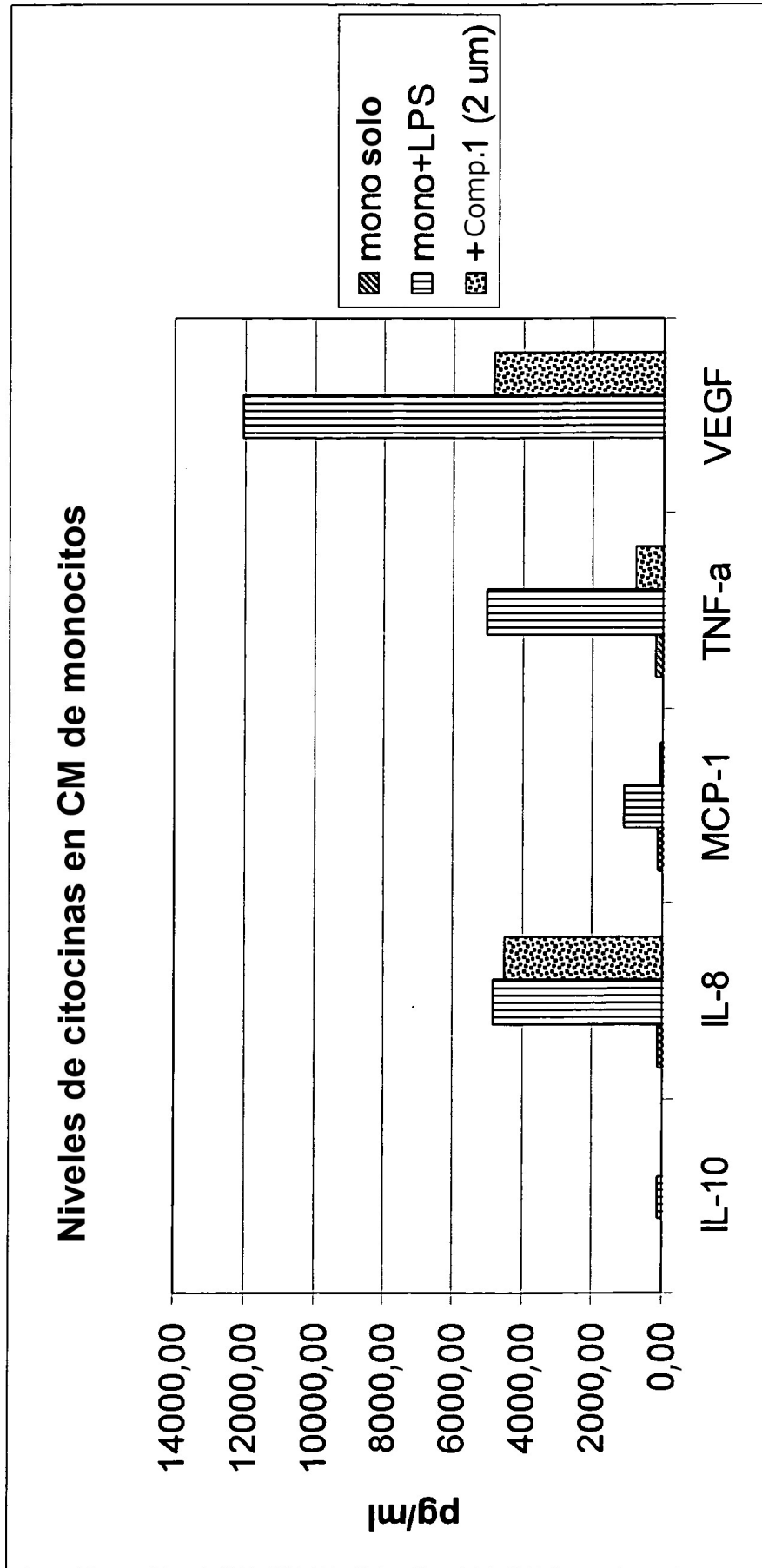


Figura 2

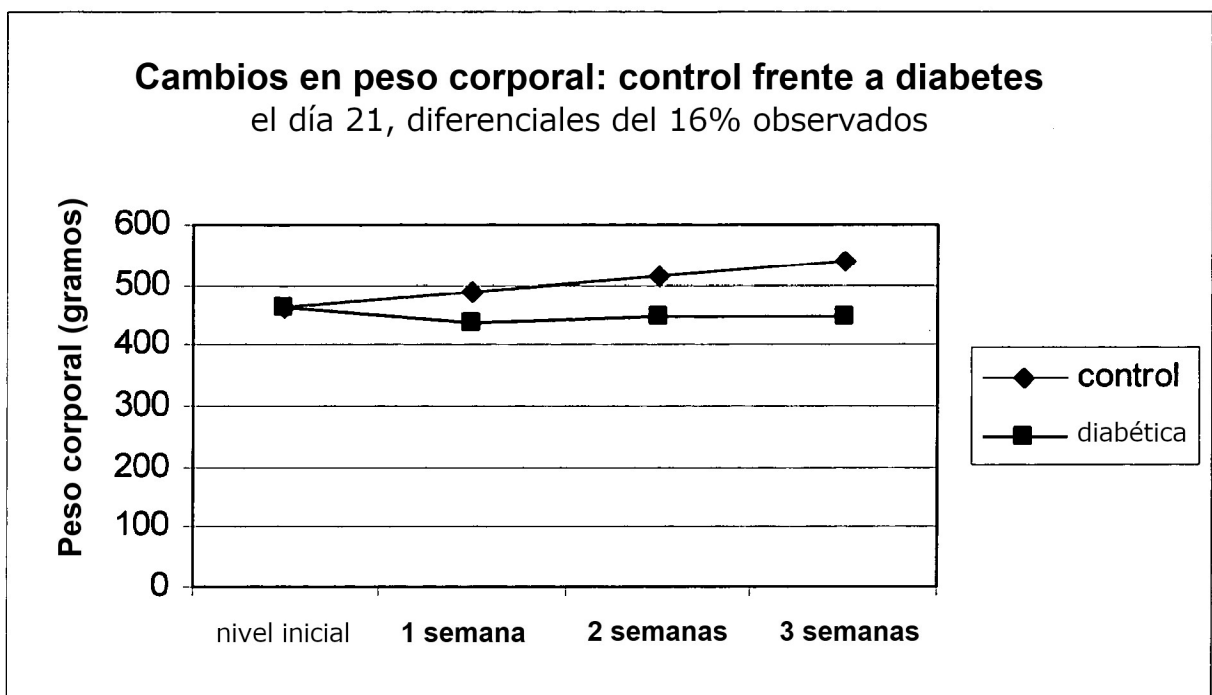


Figura 3

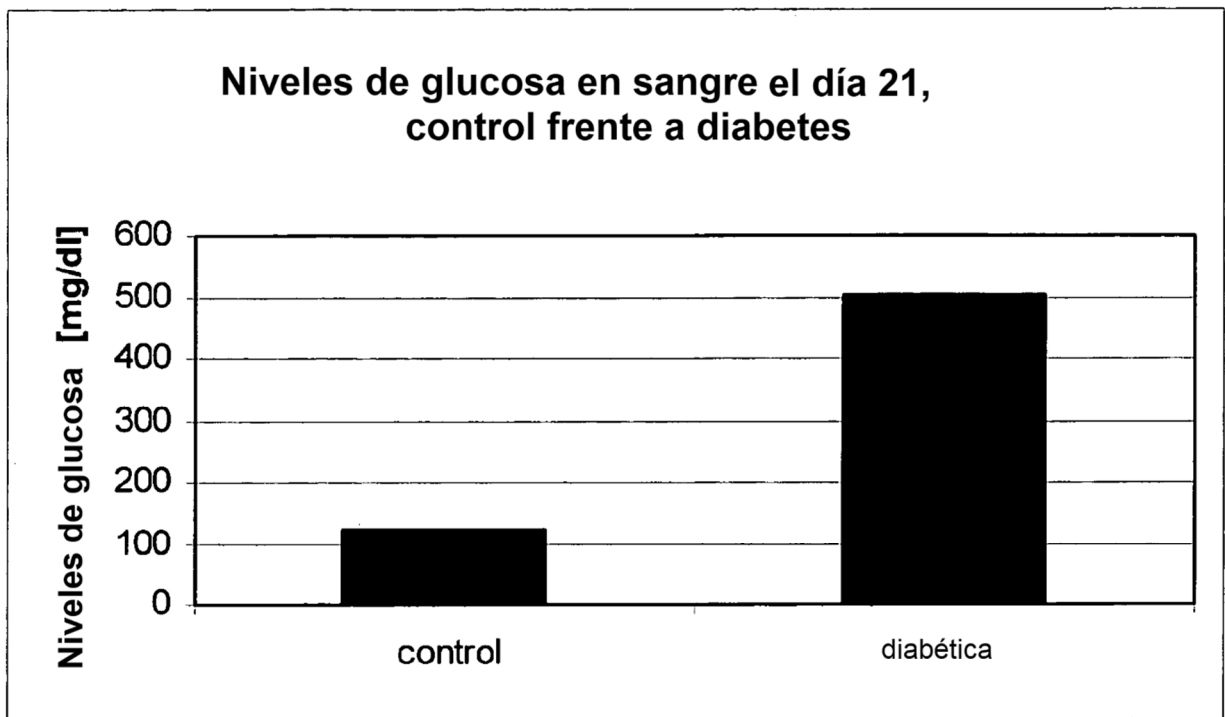


Figura 4.

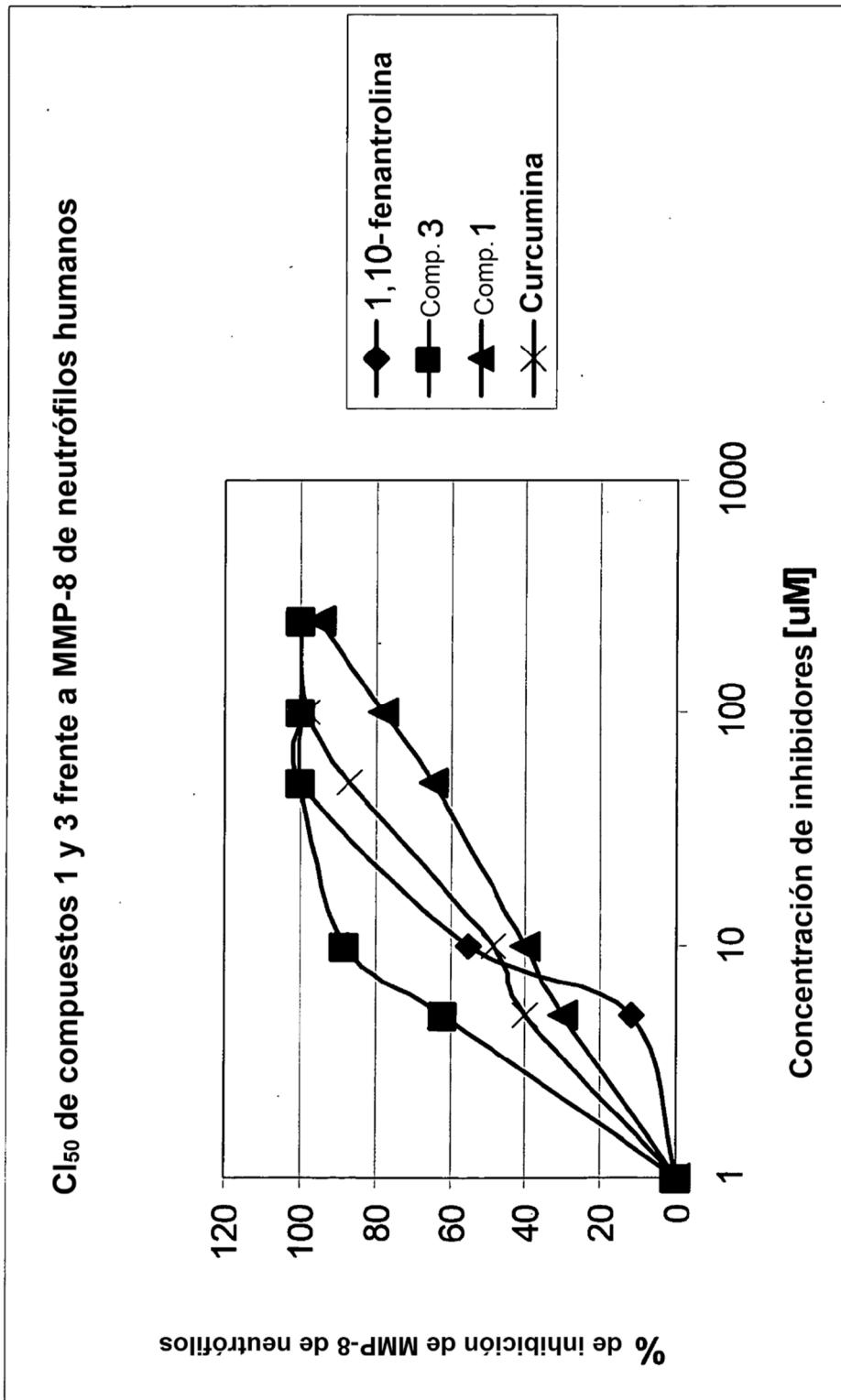


Figura 5

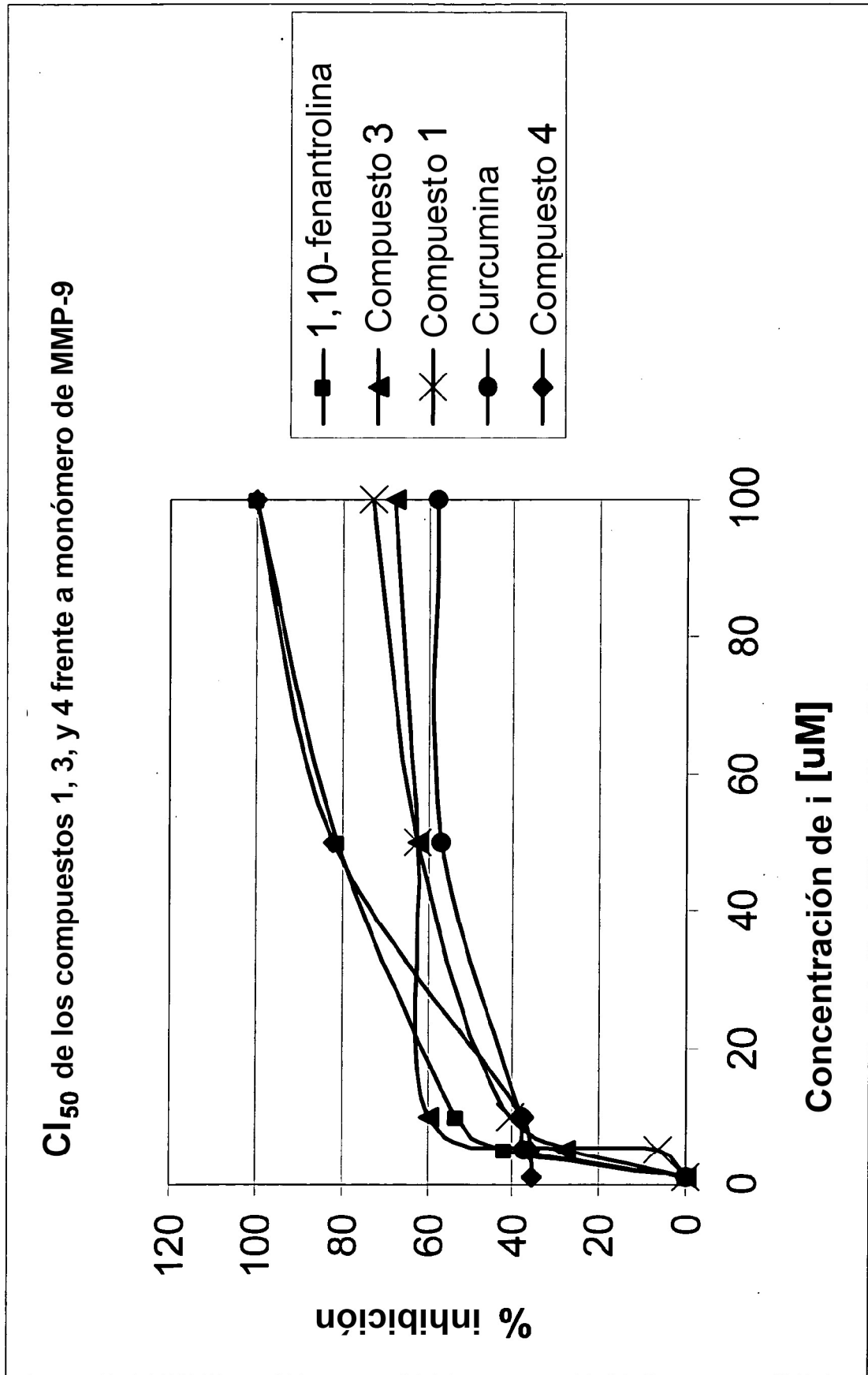
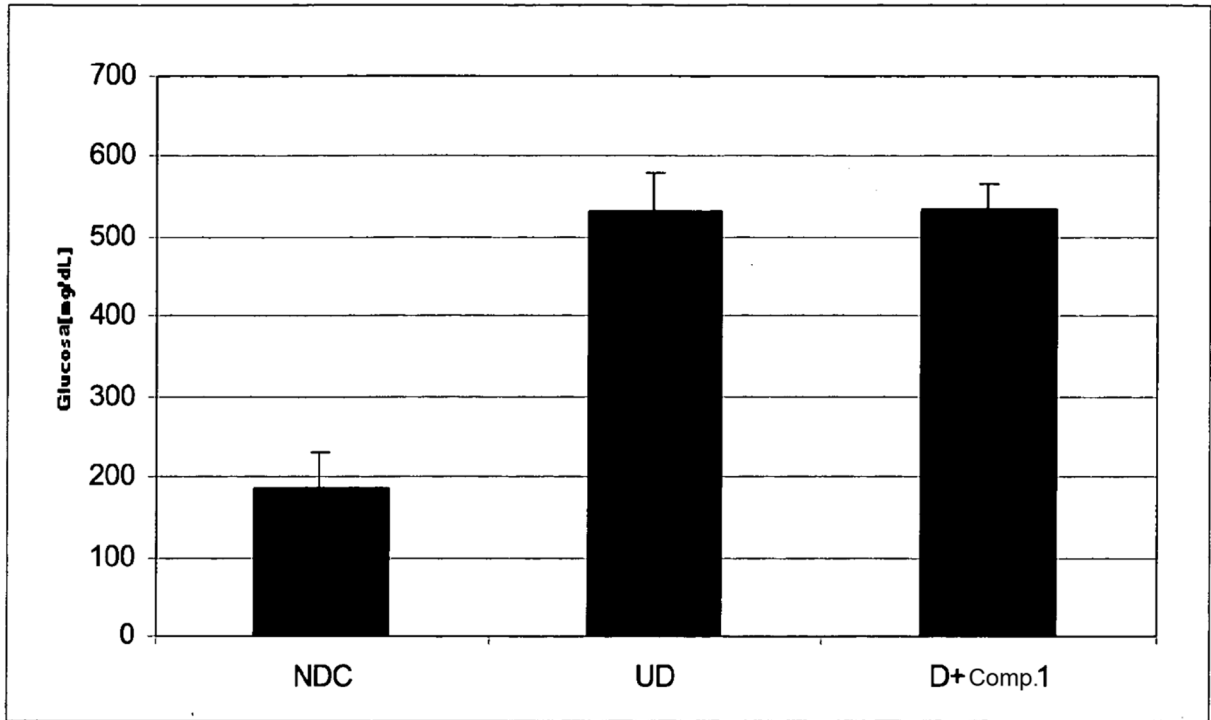


Figura 6

A.



B.

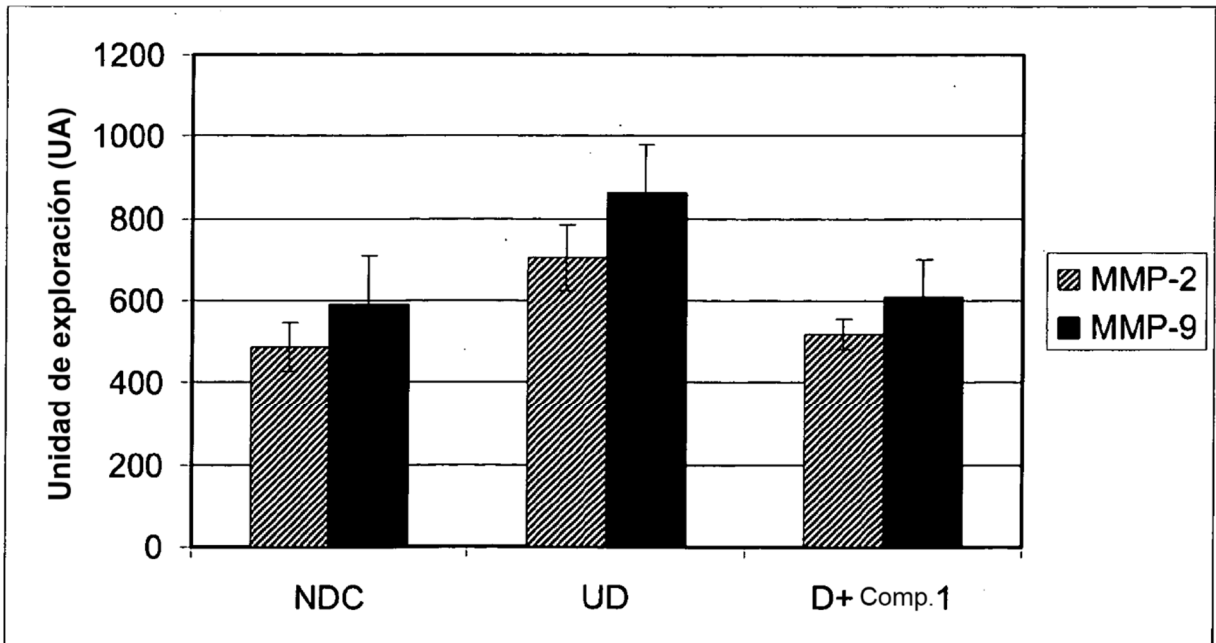


Figura 7

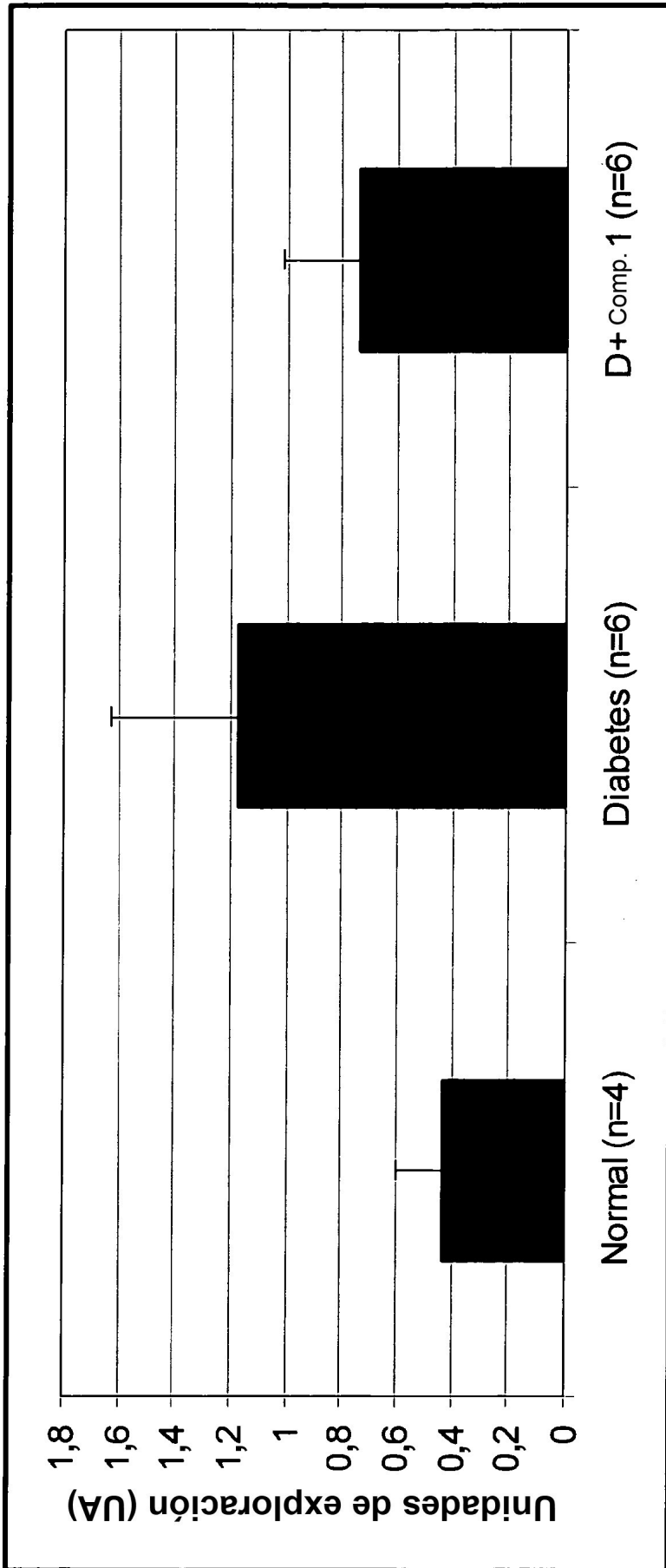


Figura 8

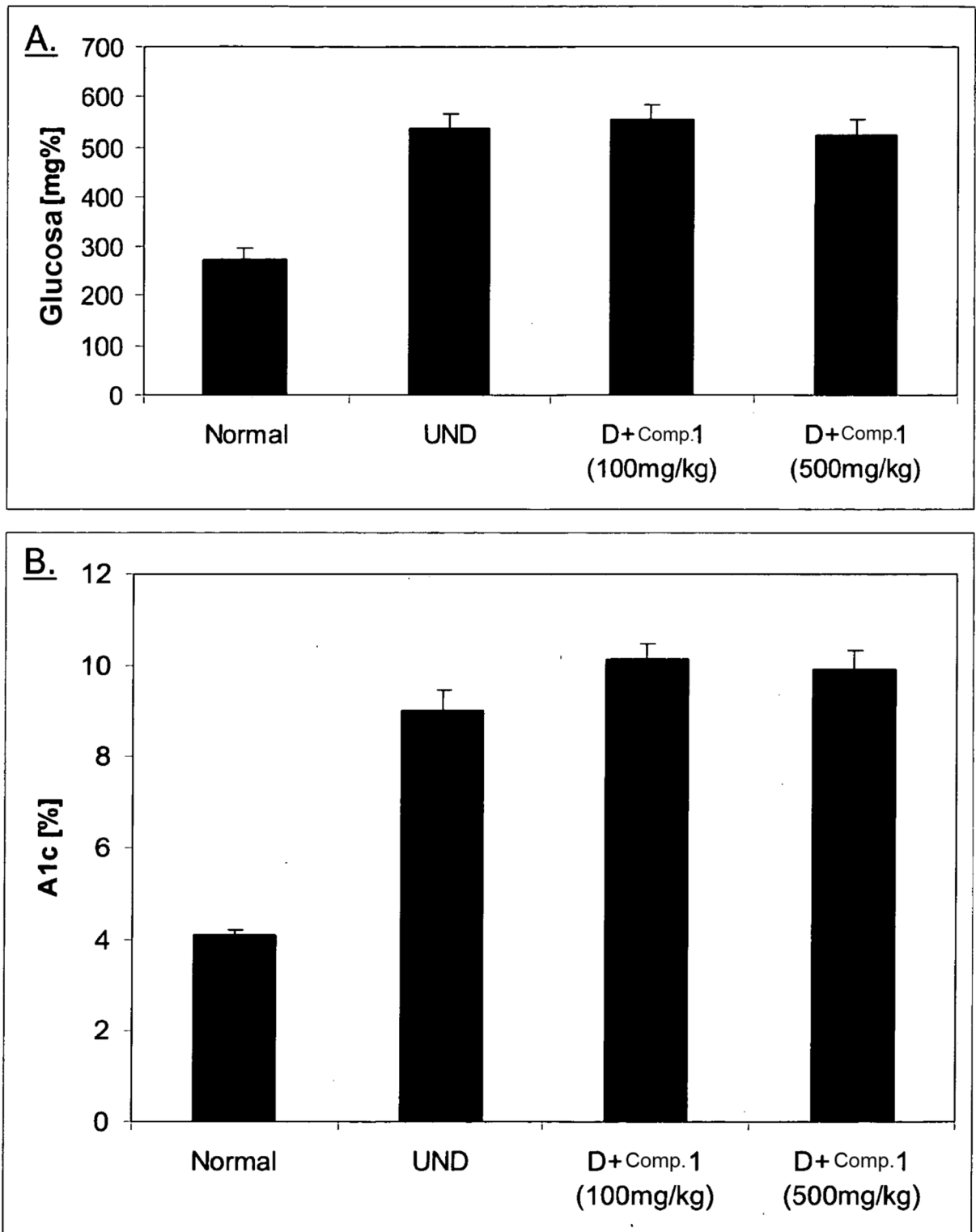
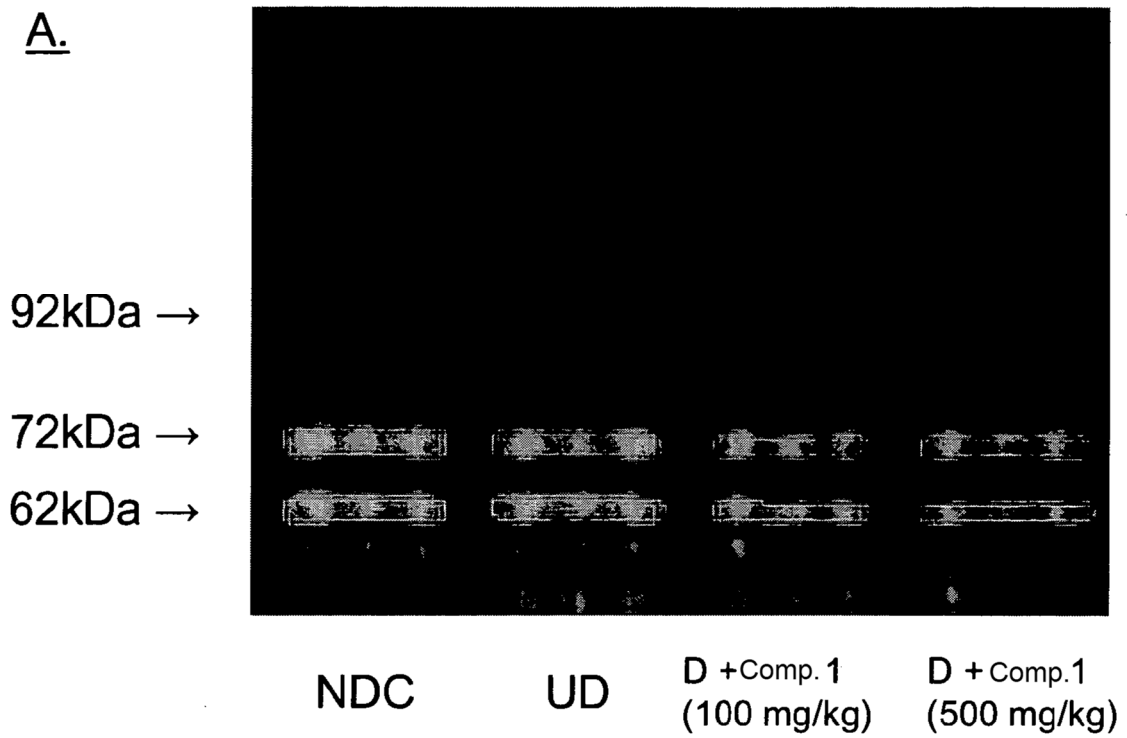


Figura 9

A.



B.

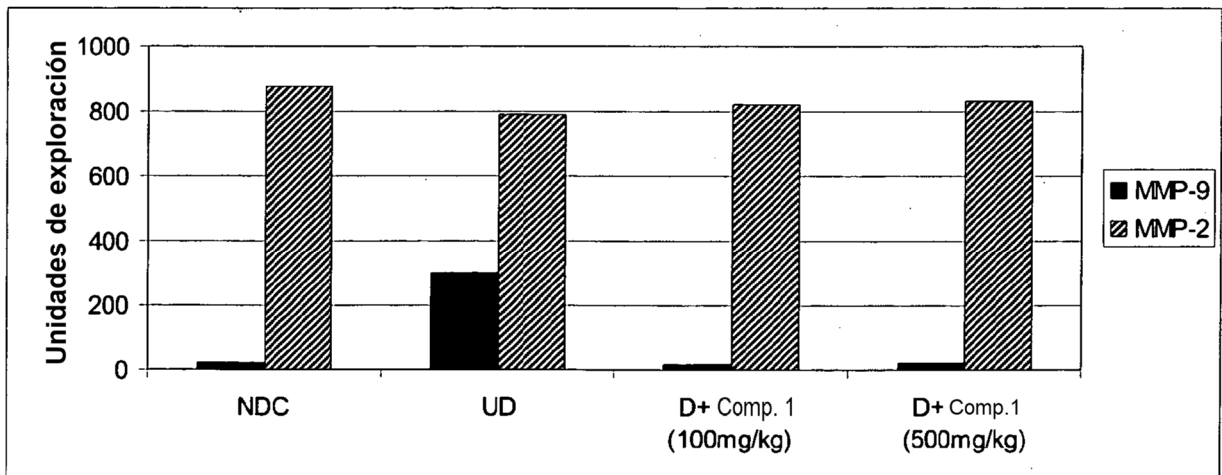


Figura 10

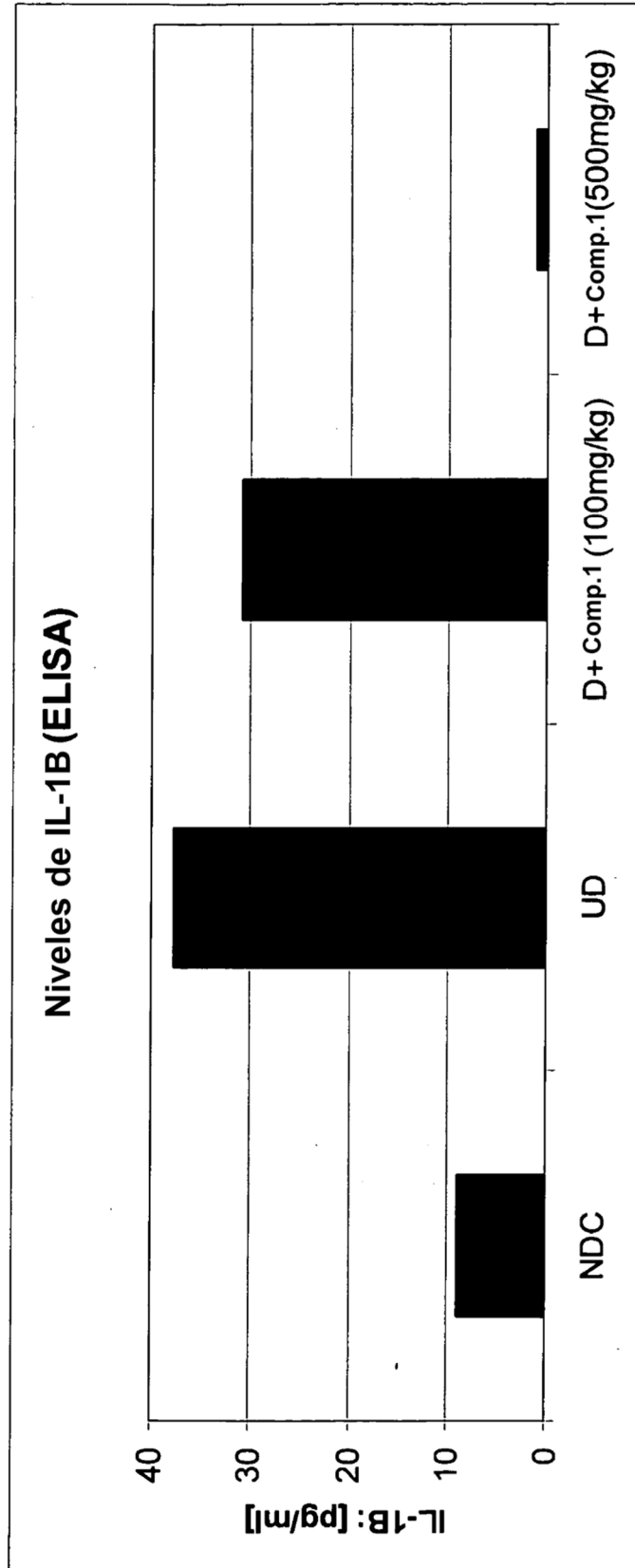
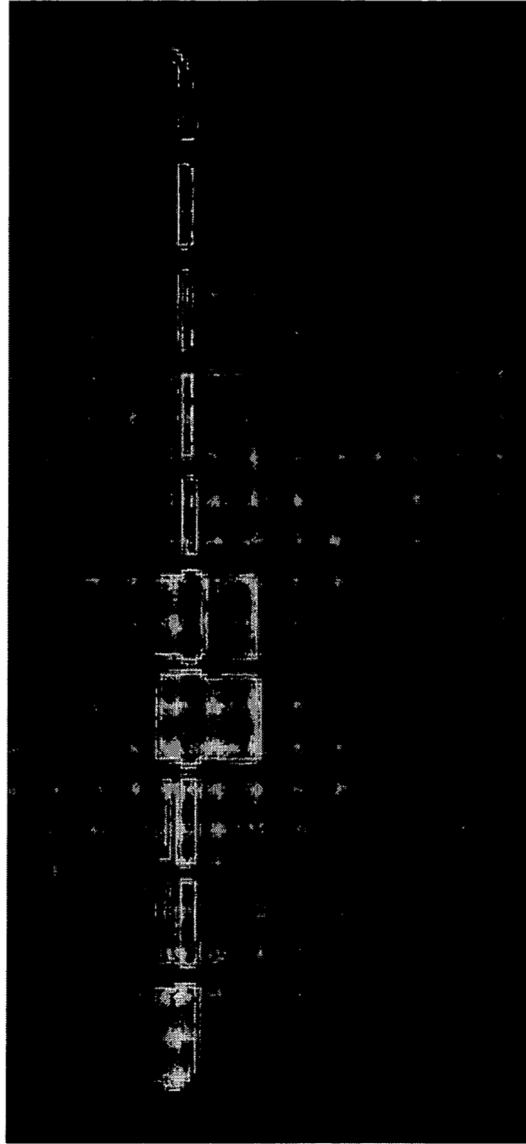


Figura 11

UD-----UD NDC-----NDC



Pro-MMP-2 (72kDa) →
MMP-2 activada (72kDa) →

Figura 12

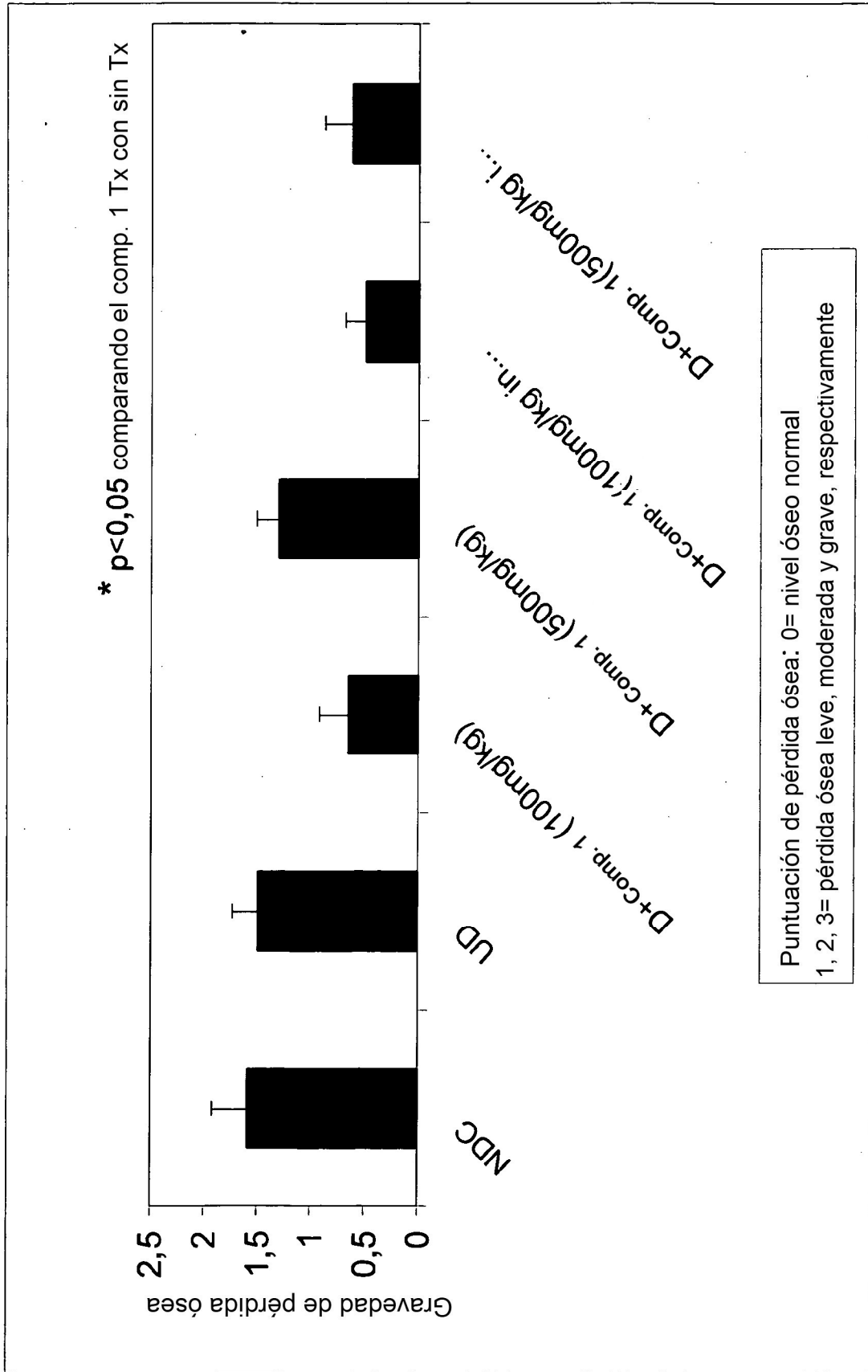
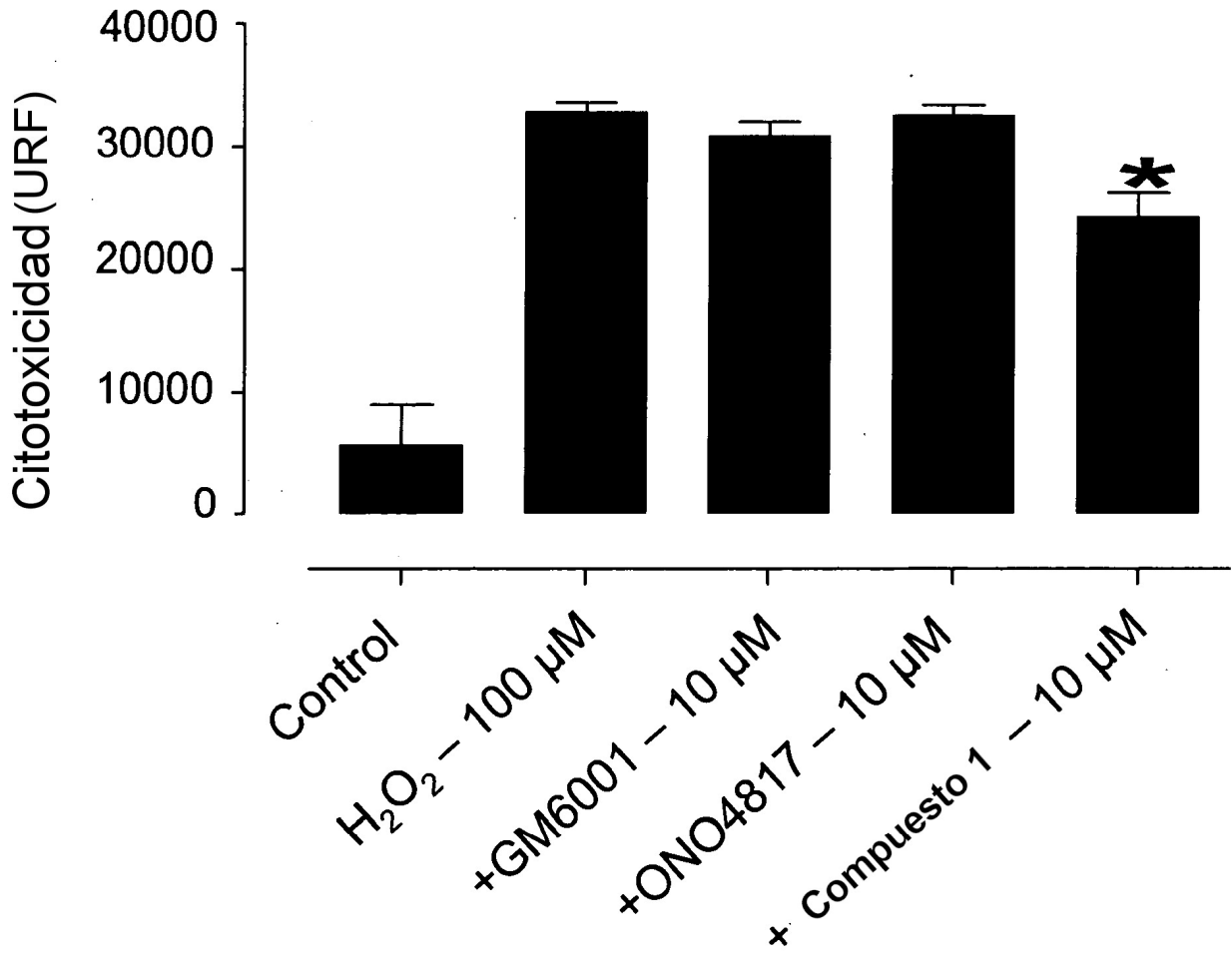


Figura 13

MMPi sobre la liberación de LFH inducida por H₂O₂ (100μ, 6h) en NRVM (n=4)



* p < 0,05, en comparación con H₂O₂ solo

Figura 14

MMPi sobre la liberación de LFH inducida por H₂O₂ (100μ, 24h) en NRVM (n=4)

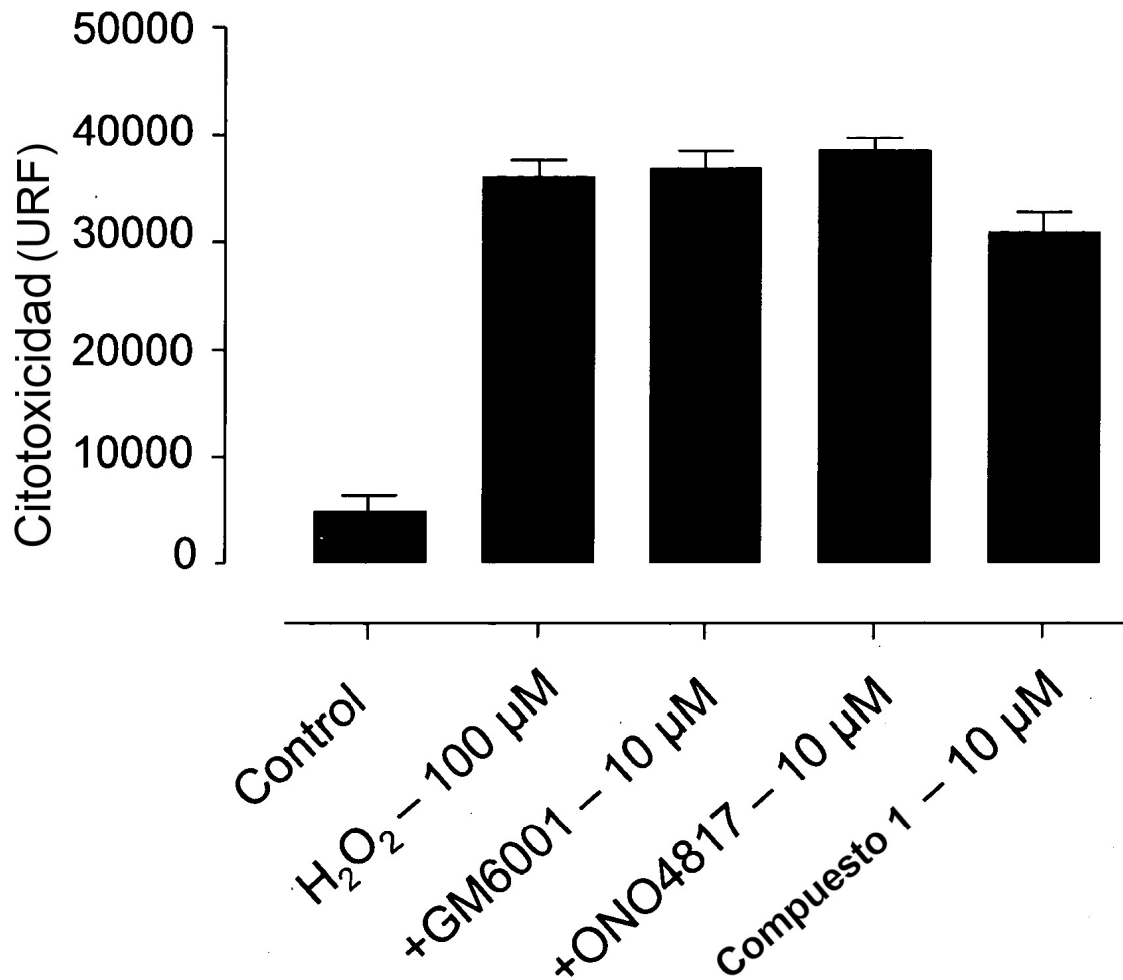


Figura 15

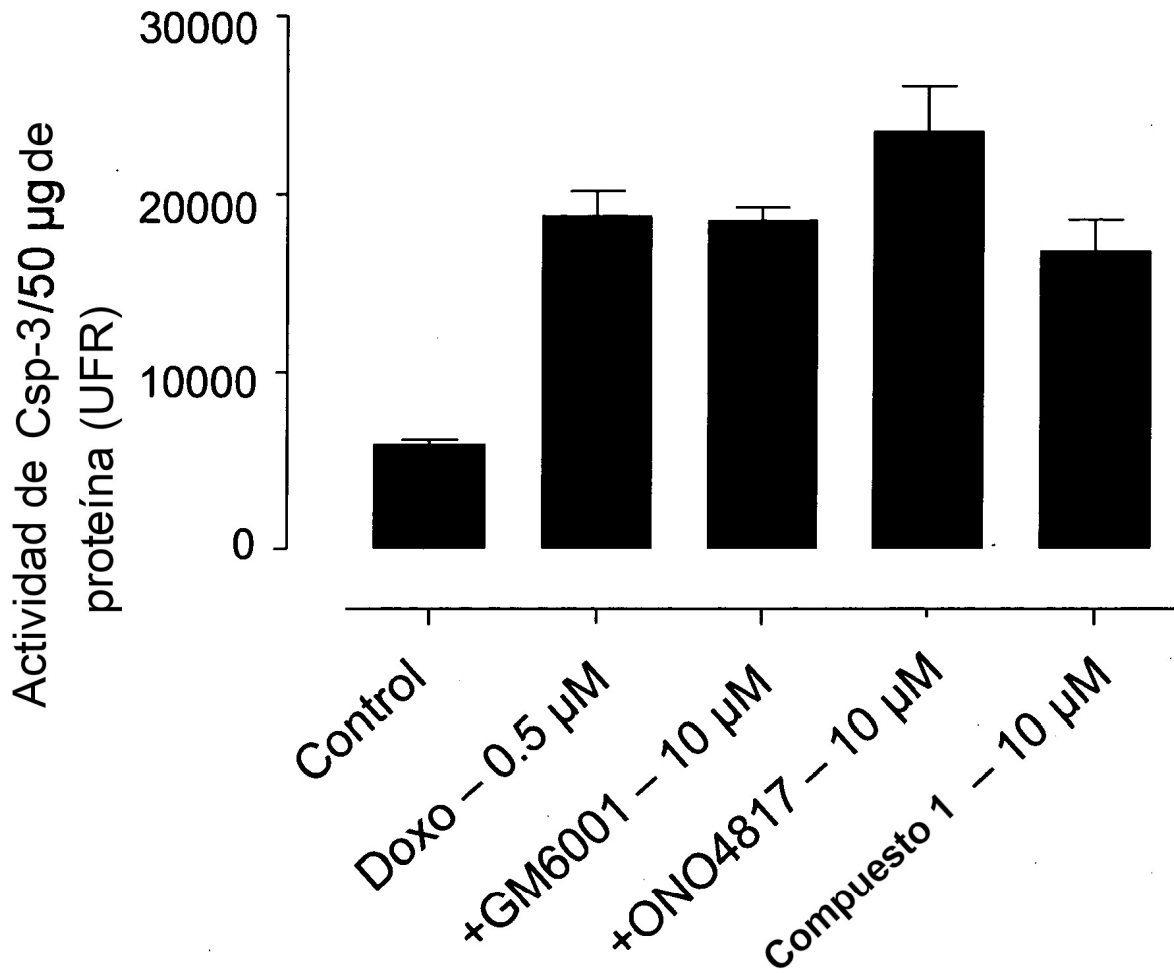
MMPi sobre la actividad de caspasa-3 inducida por doxorubicina (0,5 μ M, 6h) en NRVM (n=4)

Figura 16

MMPi sobre la actividad de caspasa-3 inducida por doxorubicina (0,5 μ M,24h) en NRVM (n=4)

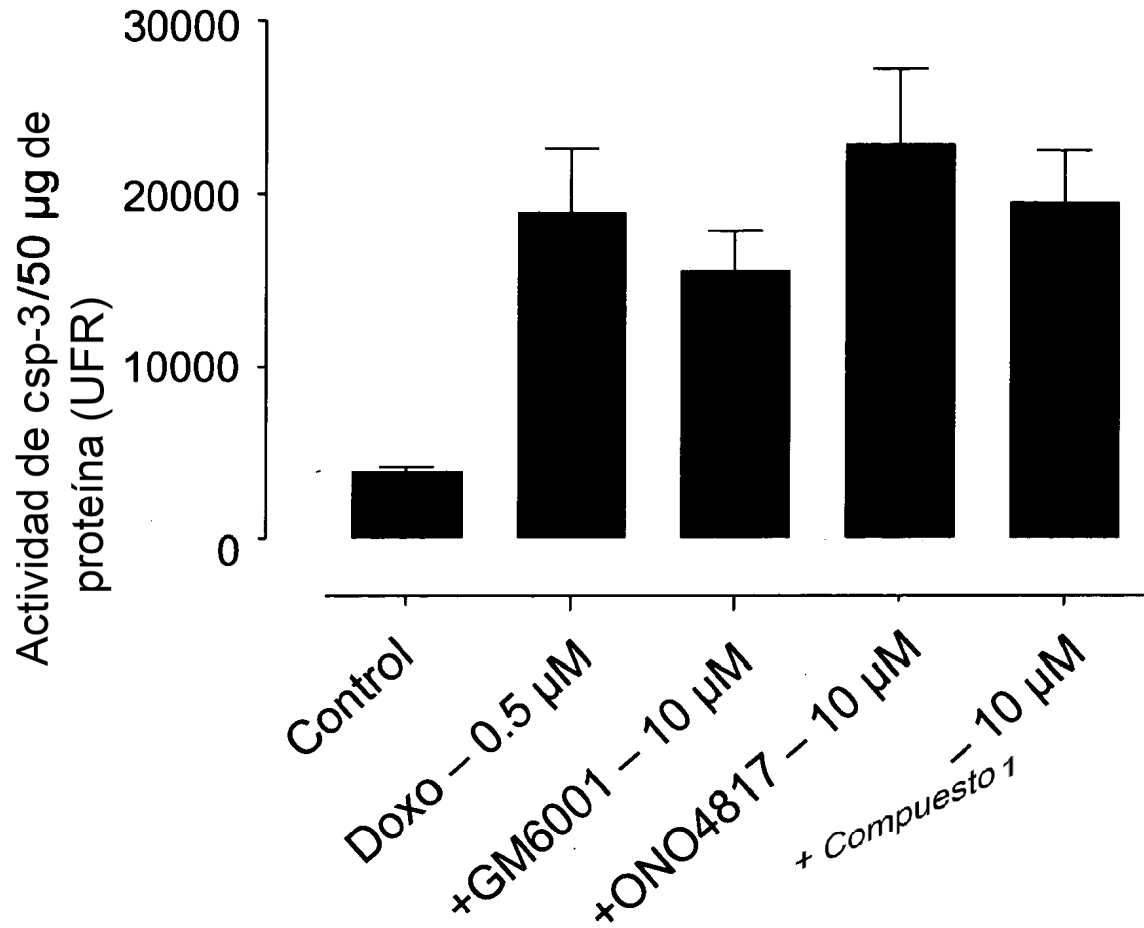


Figura 17

Análisis de la liberación de $^{35}\text{SO}_4^-$ tras el tratamiento con derivados de curcumina [24 h]

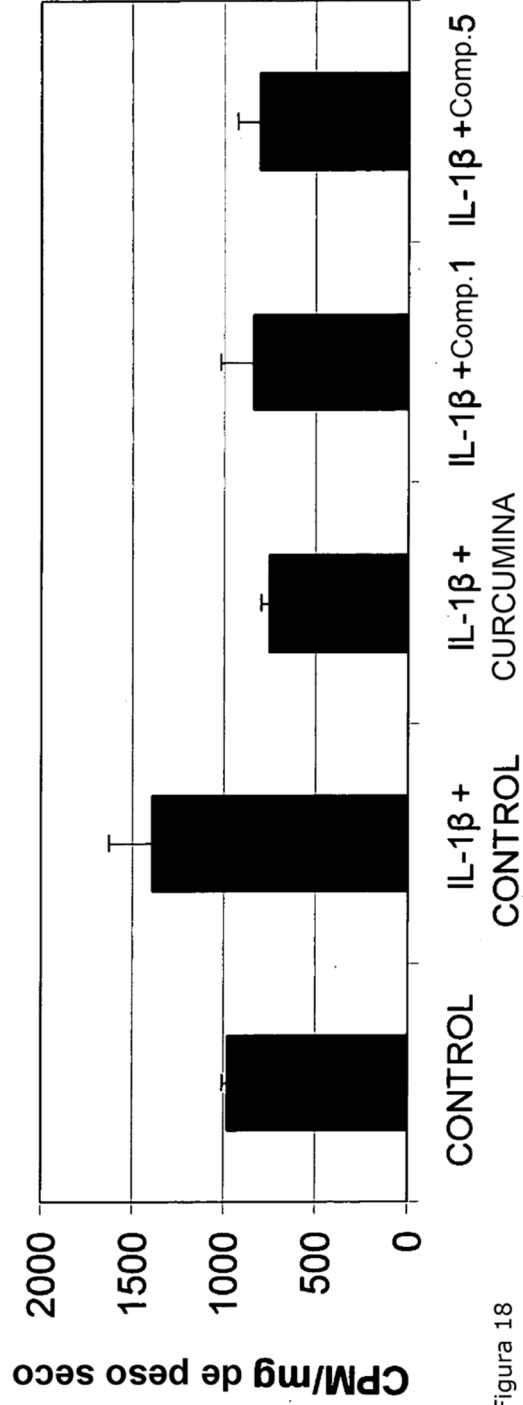


Figura 18

Análisis de la liberación de $^{35}\text{SO}_4^-$ tras el tratamiento con derivados de curcumina [48 h]

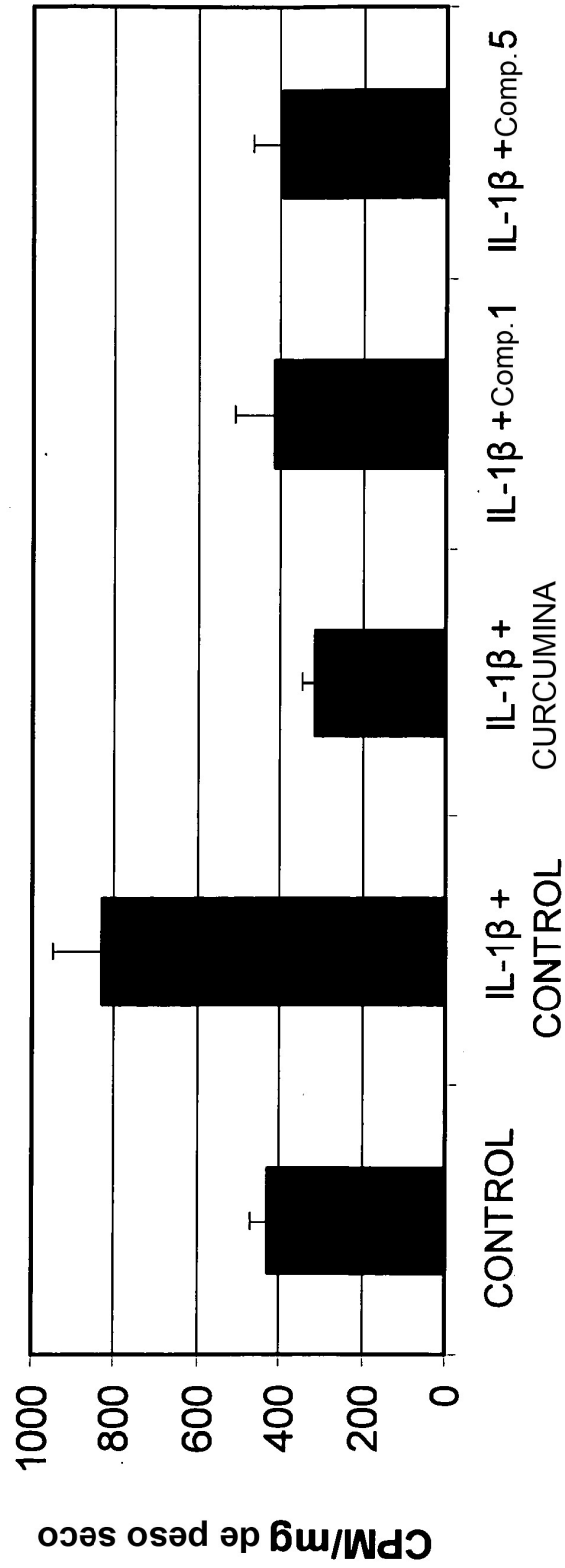


Figura 19

Análisis de la liberación de $^{35}\text{SO}_4^-$ tras el tratamiento con derivados de curcumina [72 h]

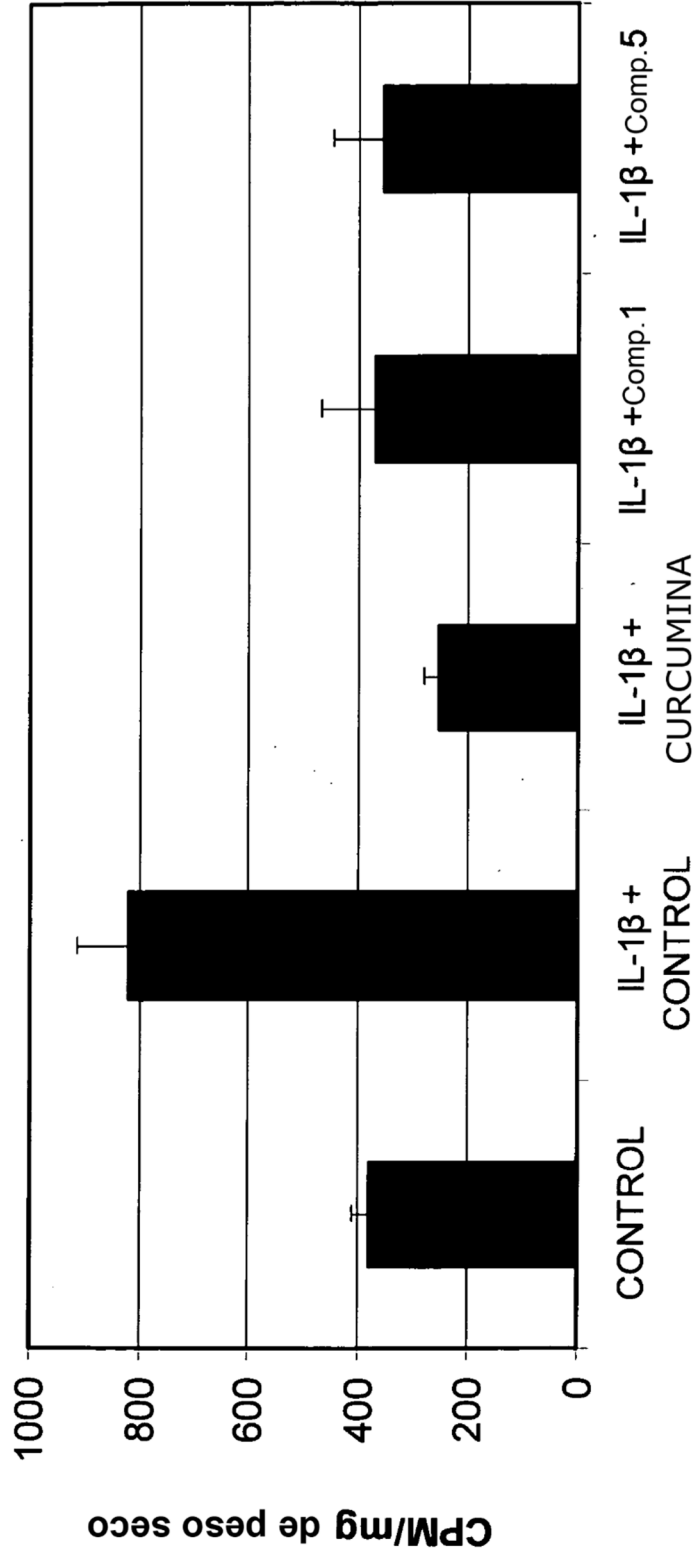


Figura 20

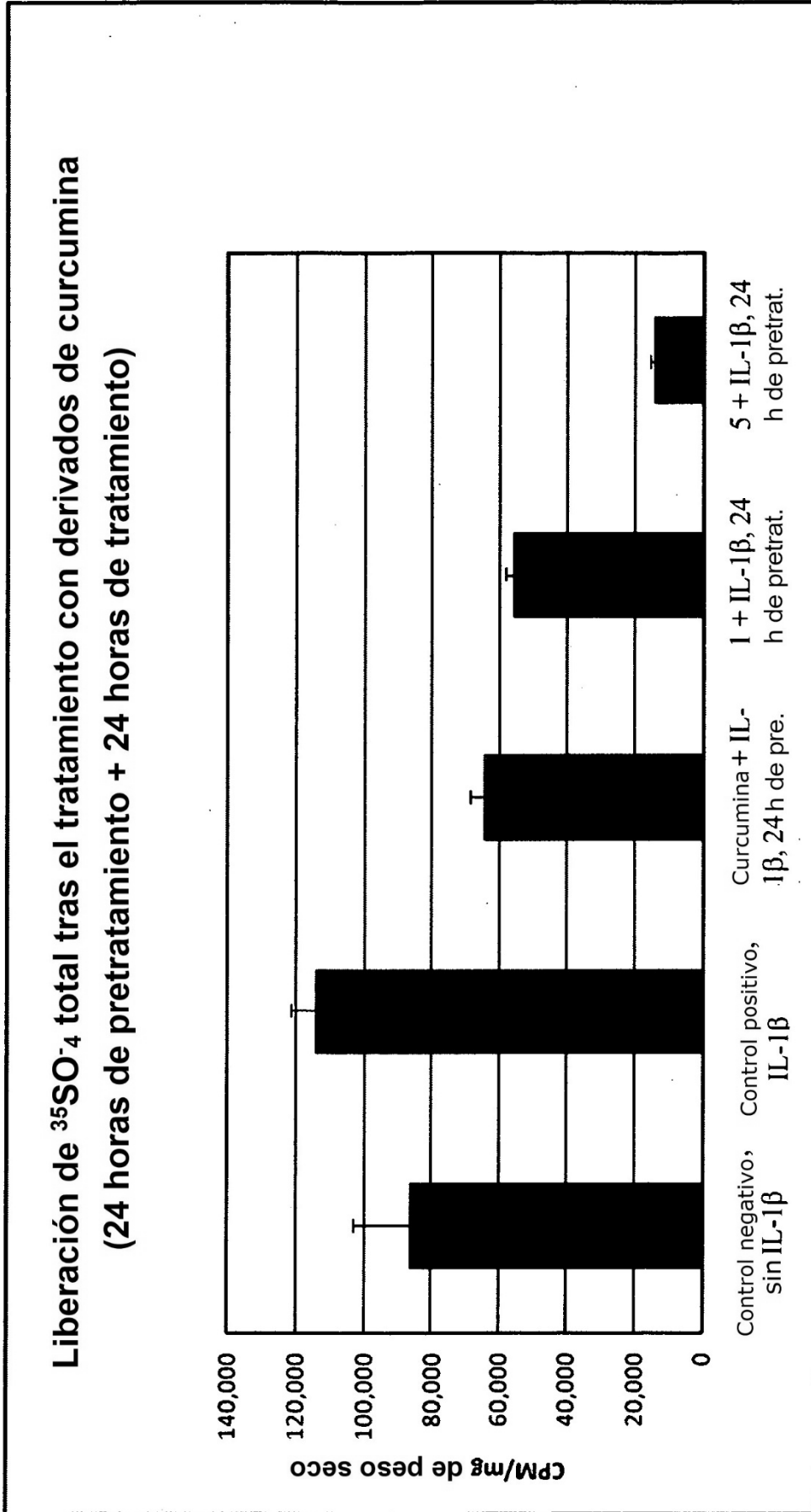


Figura 21

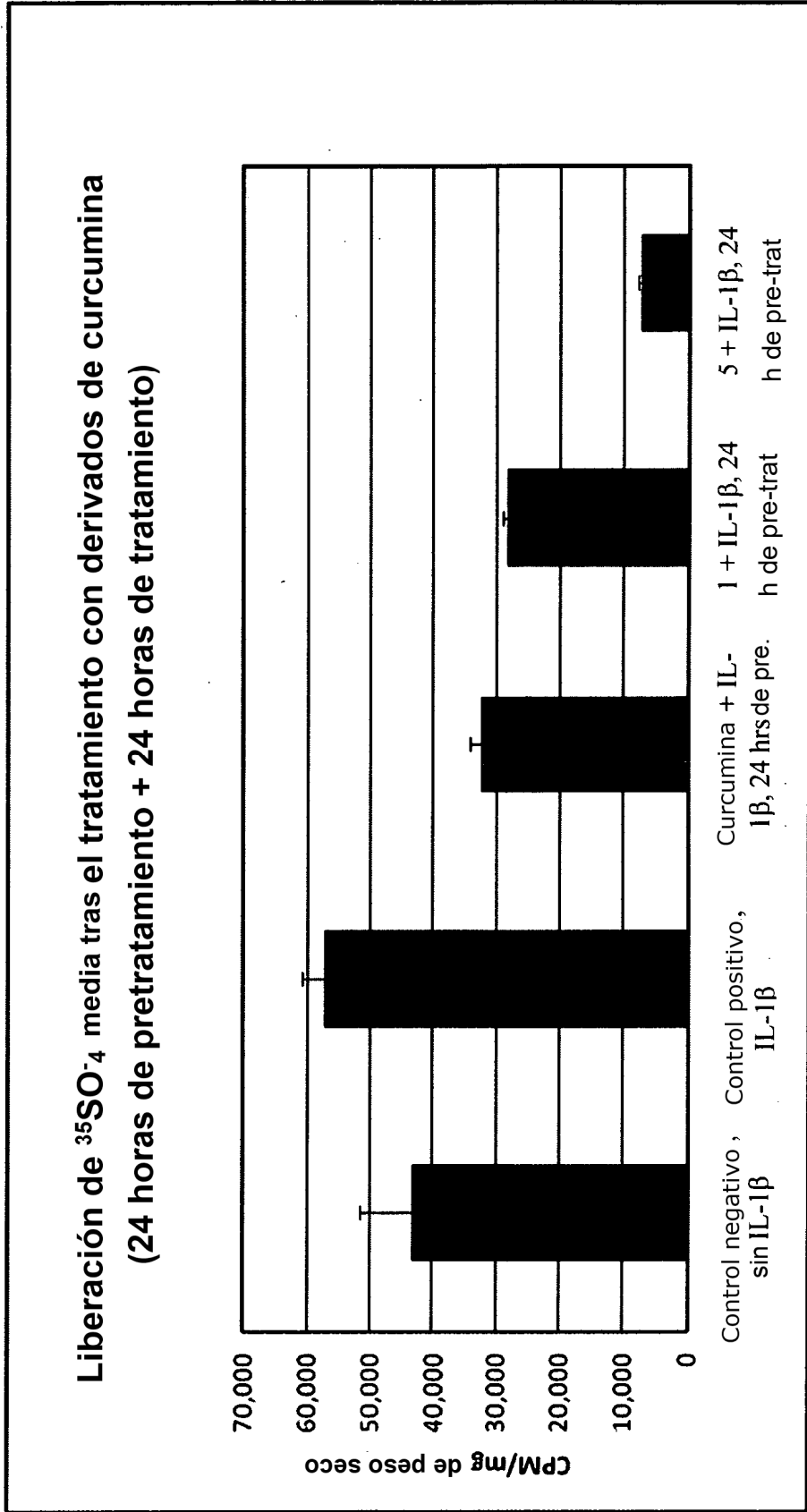


Figura 22

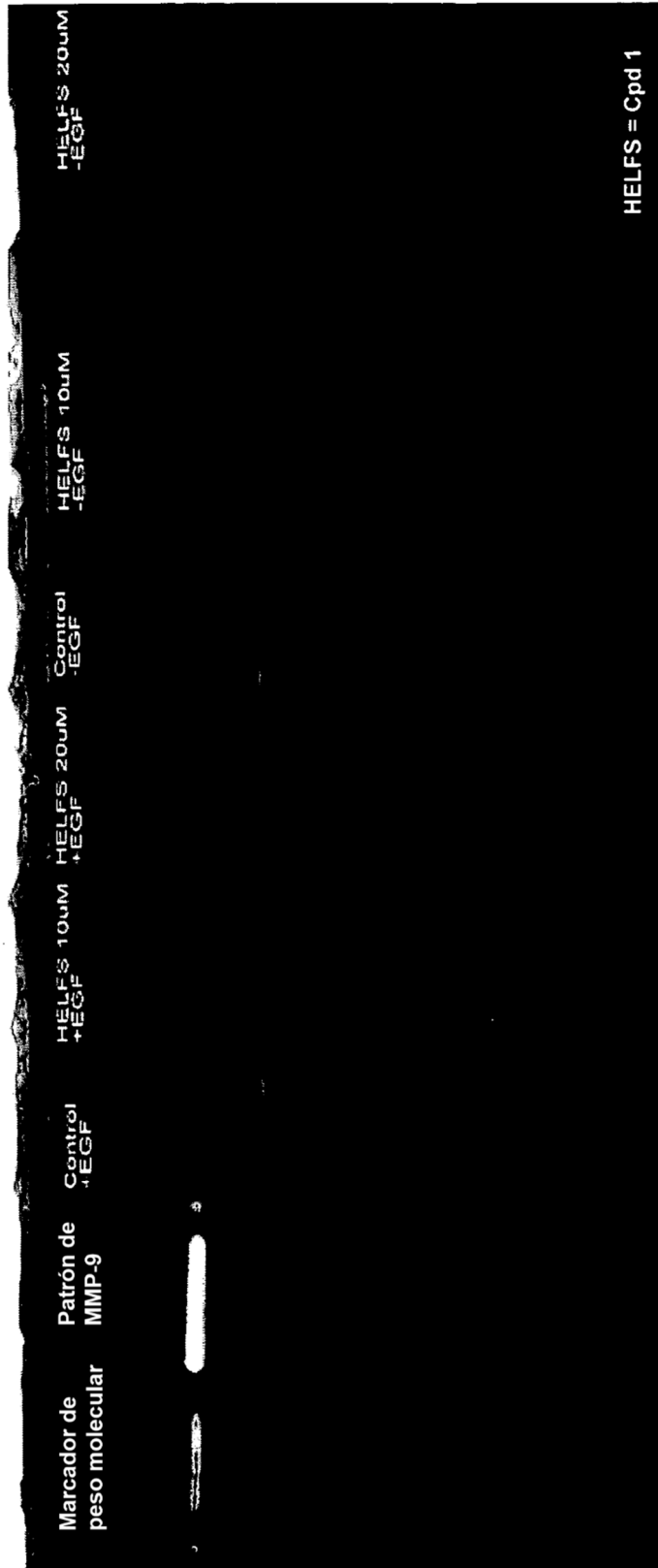


Figura 23

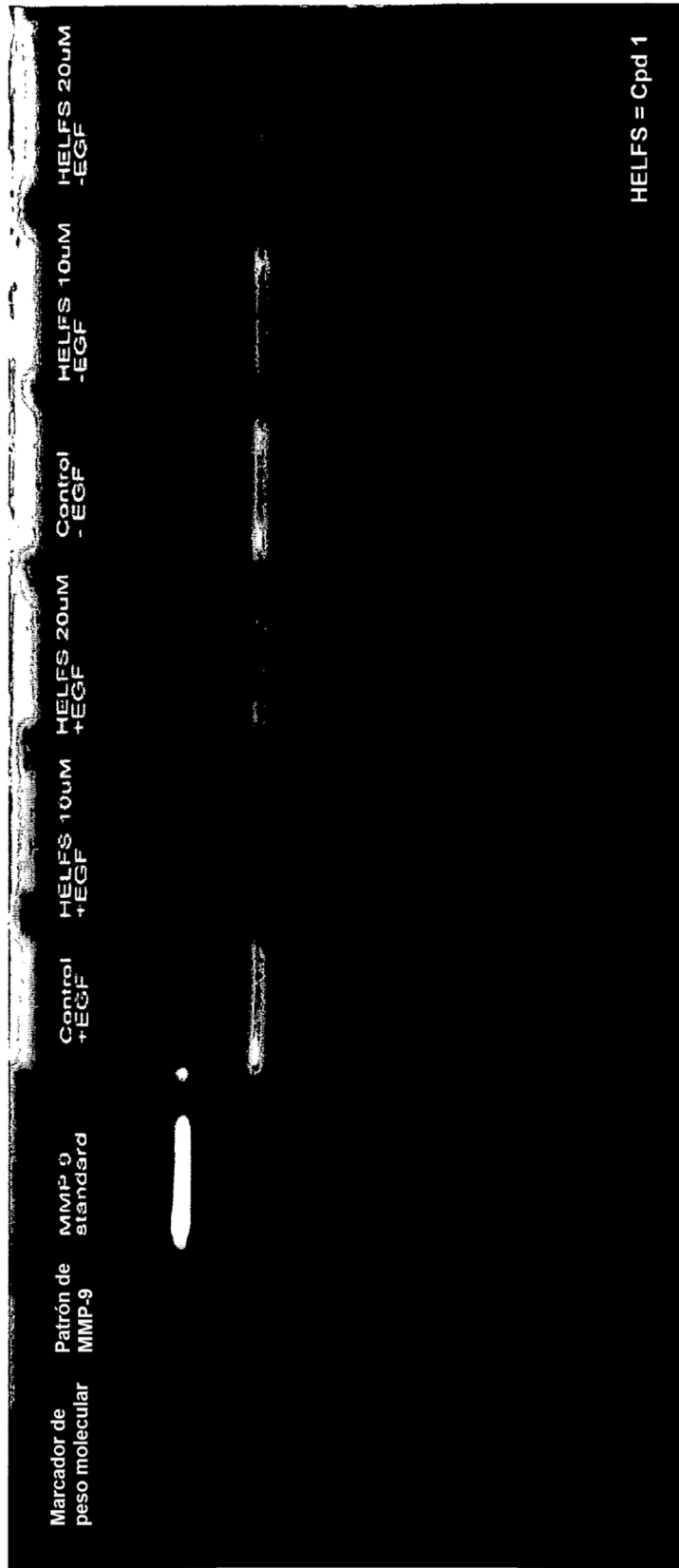


Figura 24

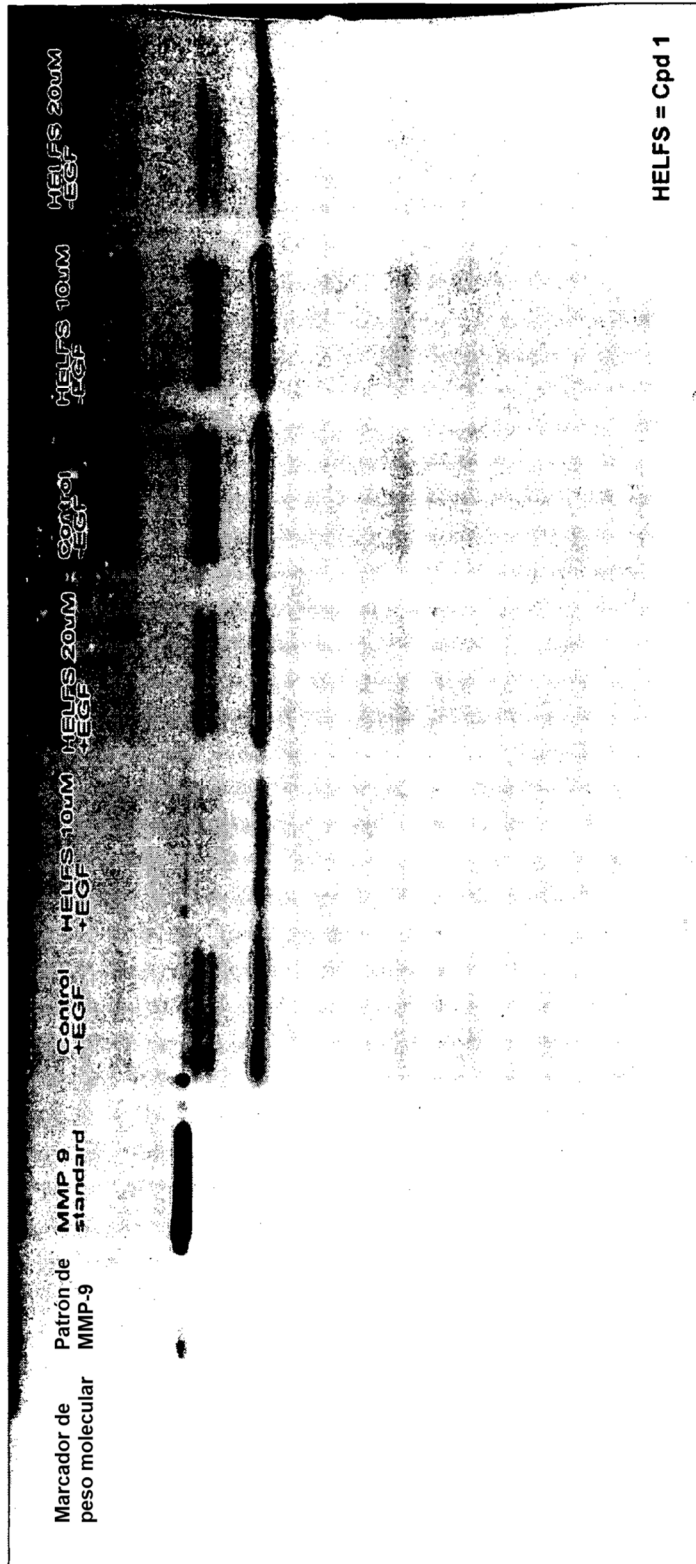


Figura 25