

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 776**

51 Int. Cl.:

C07C 69/12 (2006.01)

A61K 31/616 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61K 8/37 (2006.01)

A61Q 5/00 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

C07C 69/017 (2006.01)

C07C 69/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.11.2014 PCT/CA2014/051097**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.05.2015 WO15070354**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2014 E 14862004 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 3071543**

54 Título: **Dímeros de ácido acetilsalicílico, síntesis de los mismos, y usos de los mismos para prevenir y tratar trastornos mediados por complemento**

30 Prioridad:
18.11.2013 US 201361905596 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.07.2020

73 Titular/es:
**AURIN BIOTECH INC. (100.0%)
4727 West 2nd Avenue
Vancouver, British Columbia V6T 1C1, CA**

72 Inventor/es:
**MCGEER, PATRICK L.;
LEE, MOONHEE y
MCGEER, EDITH G.**

74 Agente/Representante:
SALVÀ FERRER, Joan

ES 2 774 776 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

Dímeros de ácido acetilsalicílico, síntesis de los mismos, y usos de los mismos para prevenir y tratar trastornos mediados por complemento

5

Campo técnico

[0001] La presente invención se refiere a dímeros de ácido acetilsalicílico, la síntesis de tales dímeros y el uso de tales dímeros para prevenir y tratar trastornos mediados por complemento.

10

Antecedentes

[0002] Los mamíferos están equipados con un sistema inmunitario innato potente para alejar a los desafíos del entorno externo. El complemento es un componente vital de esa protección inmunitaria. Sin embargo, el complemento es un arma de doble filo porque la activación aberrante del complemento también puede dañar los tejidos del huésped. Por ejemplo, la activación del complemento que supera las limitaciones de los sistemas de protección del huésped puede dar lugar a una autolesión del tejido huésped viable.

15

[0003] Sería beneficioso tener nuevos inhibidores del sistema del complemento para su uso como reguladores de la activación aberrante del complemento y/o como agentes terapéuticos en la profilaxis y/o tratamiento de trastornos mediados por complemento.

20

Características de la invención

[0004] La solicitud describe un compuesto, a saber un dímero de ácido acetilsalicílico, o una sal del mismo. Dicho dímero puede seleccionarse del grupo que consiste en ácido 4,4'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,3'-dicarboxílico (DAS-1) y sus isómeros, a saber ácido 2,4'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,3'-dicarboxílico, ácido 3,3'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-4,4'-dicarboxílico, ácido 3,4'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,4'-dicarboxílico, ácido 2,3'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,4'-dicarboxílico, ácido 2,2'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,3'-dicarboxílico, y sales de los mismos. Un dímero puede ser ácido 4,4'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,3'-dicarboxílico (DAS-1), o una sal del mismo. Según la presente invención, el dímero se selecciona del grupo que consiste en 5,5'-metilen-bis(ácido 2-acetoxibenzoico) (DAS-2), y sus isómeros, a saber, ácido 2-acetoxi-3-(4-acetoxi-3-carboxibencil)benzoico, ácido 2-acetoxi-3-(3-acetoxi-4-carboxibencil)benzoico, ácido 2-acetoxi-4-(4-acetoxi-3-carboxibencil)benzoico, 3,3'-metilenbis(ácido 2-acetoxibenzoico), 4,4'-metilen-bis(ácido 2-acetoxibenzoico), y sales de los mismos. En otra realización preferida, el dímero puede ser 5,5'-metilen-bis(ácido 2-acetoxibenzoico) (DAS-2), o una sal del mismo.

25

30

35

[0005] Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende los compuestos seleccionados anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición está esencialmente libre de monómeros y multímeros no dímeros de ácido acetilsalicílico.

40

[0006] Un aspecto de la descripción proporciona un compuesto para utilizar en un procedimiento de bloqueo de la etapa de la convertasa C3 de la vía alternativa del complemento, comprendiendo el procedimiento administrar una cantidad eficaz de un dímero de ácido acetilsalicílico, tal como DAS-2 o sus isómeros.

45

[0007] Un aspecto adicional de la descripción proporciona un compuesto para utilizar en un procedimiento para prevenir la formación del complejo de ataque a membrana de complemento, comprendiendo el procedimiento administrar una cantidad eficaz de un dímero de ácido acetilsalicílico, tal como DAS-2 o sus isómeros.

50

[0008] Un aspecto adicional de la descripción proporciona un compuesto para utilizar en un procedimiento para prevenir o tratar un trastorno mediado por el complemento en un mamífero, comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero una cantidad eficaz de un dímero de ácido acetilsalicílico, tal como DAS-2 o sus isómeros.

55

[0009] Otro aspecto de la descripción proporciona un compuesto para utilizar en un procedimiento para prevenir o tratar un trastorno mediado por el complemento en un mamífero, en el que el trastorno es una enfermedad inflamatoria crónica, comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero una cantidad eficaz de un dímero de ácido acetilsalicílico, tal como DAS-2 o sus isómeros. En realizaciones de ejemplo, los trastornos incluyen afecciones inflamatorias y/o degenerativas crónicas, tales como, hemoglobinemia paroxística nocturna, degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad de Alzheimer, artritis reumatoide, aterosclerosis, síndrome hemolítico urémico atípico, esclerosis múltiple, infección de malaria, enfermedad de Pick, enfermedad de Parkinson y neuromielitis óptica. En algunas realizaciones, la etapa de administración incluye la administración oral. En algunas realizaciones, los procedimientos incluyen la administración de monómeros y multímeros no dímeros de ácido acetilsalicílico.

60

[0010] Otro aspecto de la descripción proporciona un compuesto para utilizar en un procedimiento para prevenir o tratar un trastorno mediado por el complemento en un mamífero, en el que el trastorno es una enfermedad inflamatoria de la piel, comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero una cantidad eficaz de un dímero de ácido acetilsalicílico, tal como DAS-2 o sus isómeros. En realizaciones de ejemplo, las enfermedades incluyen alopecia

65

androgenética, quemadura térmica o por rayos ultravioleta, acné, dermatitis atópica, caspa/dermatitis seborreica, pénfigo, eritematosis, alopecia cicatricial y alopecia areata. En algunas realizaciones, la etapa de administración incluye la administración tópica. En algunas realizaciones, los procedimientos incluyen la administración de monómeros y multímeros no dímeros de ácido acetilsalicílico.

5

Breve descripción de los dibujos

[0011] La Figura 1 es un diagrama esquemático que muestra la secuencia de reacciones en las vías del complemento clásica y alternativa. Se muestran las etapas bloqueadas por dímeros de ácido acetilsalicílico, DAS-1 y DAS-2. Para ambas vías, se bloquea la etapa de inserción de C9 en C5b678. Para la vía alternativa, se bloquea la etapa de escisión de PC3bB mediante el Factor D.

10

Las figuras 2A y 2B muestran el análisis espectrográfico de masas de DAS-1 y DAS-2, respectivamente, junto con sus estructuras y nombres formales. La espectroscopía de masas se realizó en el modo +1, de manera que las masas aparentes de DAS-1 a 359 y DAS-2 a 373 son +1 mayor que su verdadera masa de 358 y 372, respectivamente. La Figura 2C muestra las estructuras de los isómeros de DAS-1 que incluye las formas para-meta, para-orto, meta-meta, meta-orto y orto-orto, junto con sus nombres químicos adecuados. La Figura 2D muestra estructuras de los isómeros de DAS-2 que incluye las formas para-meta, para-orto, meta-meta, meta-orto y orto-orto junto con sus nombres químicos adecuados.

15

Las figuras 3A a 3C son gráficos que muestran un análisis CH50 de hemólisis de glóbulos rojos humano por el suero activado por zimógeno de humano, rata, gato y perro. El grado de protección de dicha hemólisis por DAS-1 (Figura 3A), y DAS-2 (Figura 3B) se muestra junto con sus CI50. El precursor ácido acetilsalicílico (Figura 3C) no confiere ninguna protección ni a concentraciones 10.000 veces mayores.

20

Las Figuras 4A y 4B muestran análisis de transferencia Western de membranas de los glóbulos rojos humanos tras la exposición a suero humano activado con zimógeno. Sólo la vía clásica se activa, dado que la vía alternativa es bloqueada por los anticuerpos para properdina y Factor D. La Figura 4A muestra que DAS-1 y DAS-2 no bloquean las etapas opsonizantes. La Figura 4B muestra que DAS-1 y DAS-2 bloquean en la etapa en la que C9 se une a C5b678.

25

La figura 5 muestra los análisis de transferencia Western de membranas de glóbulos rojos humanos tras la exposición a suero humano activado por zimógeno donde la vía clásica es bloqueada por el inhibidor de C1. La Figura 5 muestra que el bloqueo de DAS-1 y DAS-2 se produce en la etapa donde se escinde PC3bB unida a membrana por el Factor D. El Factor D no se une al complejo, pero permanece en solución.

30

Las figuras 6A y 6B son gráficos que muestran la unión específica de DAS-1 y DAS-2 a C9 y Factor D, pero no a C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, properdina y Factor B.

Descripción detallada

35

[0012] A lo largo de la siguiente descripción, se exponen detalles específicos con el fin de proporcionar una comprensión más completa de la invención.

[0013] El término "enfermedad inflamatoria crónica" se refiere a enfermedades o afecciones caracterizadas por la inflamación persistente, típicamente en ausencia de un irritante o patógeno microbiano identificable.

40

[0014] El término "trastorno mediado por complemento", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un trastorno en el que su patogénesis implica la activación del complemento que supera los mecanismos de autoprotección de un sujeto (tales como proteínas de autoprotección, que incluyen CD 55 (factor acelerador de la descomposición), CD 59 (protectina), factor H, y similares) y provoca la autolesión del tejido del sujeto.

45

[0015] El término una "cantidad eficaz", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de agente activo suficiente para provocar una respuesta biológica deseada (o, de manera equivalente, para inhibir una respuesta biológica no deseada). Tal como se entenderá por los expertos en esta técnica, la cantidad absoluta de un agente particular que es eficaz puede variar dependiendo de factores, tales como el punto final biológico deseado, el agente a administrar, el tejido diana, etc. Los expertos en la técnica entenderán además que se puede administrar una "cantidad eficaz" en una dosis única, o puede lograrse mediante la administración de dosis múltiples.

50

[0016] El término "mamífero" se refiere a cualquier especie de mamífero incluyendo, sin limitación, ratones, ratas, conejos, perros, primates y, en particular, seres humanos.

55

[0017] Los términos "prevenir" y "que previene", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a detener, retraso de la aparición (es decir, el período anterior a la manifestación clínica de una enfermedad o afección) y/o reducción del riesgo de desarrollar o empeorar una enfermedad o afección en un sujeto.

60

[0018] El término "sujeto", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un individuo al que se administra un agente, por ejemplo, con fines profilácticos o terapéuticos. Los sujetos preferidos son mamíferos, incluyendo seres humanos y mamíferos domesticados.

65

[0019] Los términos "que trata", "tratar" y "tratamiento", tal como se usan en el presente documento, se refiere al alivio, la reducción o la mitigación de al menos un síntoma de una enfermedad o afección en un sujeto. Por ejemplo, el

tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de una enfermedad o afección o la erradicación completa de una enfermedad o afección.

5 **[0020]** La solicitud describe un compuesto que es un dímero de ácido acetilsalicílico. En un aspecto, el compuesto es ácido 2,2'diacetoxi-4,4'-bifenil carboxílico, descrito en el presente documento como ácido diacetilsalicílico-1 (DAS-1). DAS-1 tiene una estructura que se muestra en la figura 2A. DAS-1 es la forma para-para. Otros aspectos incluyen isómeros de DAS-1 en las formas para-meta, para-orto, meta-meta, meta-orto y orto-orto, tal como se muestra en la figura 2C.

10 **[0021]** En una realización según la invención, el compuesto es 4,4'-metilenbis-(ácido 2-acetoxibenzoico), descrito en el presente documento como ácido diacetilsalicílico-2 (DAS-2). DAS-2 tiene una estructura que se muestra en la figura 2B. DAS-2 es la forma para-para. Otras realizaciones incluyen isómeros de DAS-2 en formas para-meta, para-orto, meta-meta, meta-orto y orto-orto, tal como se muestra en la figura 2D.

15 **Ejemplo de síntesis y separación de DAS-1 y DAS-2**

[0022] La síntesis de ácido diacetilsalicílico 1 (DAS-1) y ácido diacetilsalicílico 2 (DAS-2) no se ha descrito previamente. El siguiente procedimiento es una realización de ejemplo para DAS-2. Se disuelve ácido 3-cloro-2-hidroxibenzoico en 1 mmol por ml de metanol. Se añade un volumen al 25% de agua y la solución se enfría a 0 °C. Se añade gota a gota un volumen de ácido sulfúrico concentrado igual a 3 veces el volumen de metanol. A esta solución se añade gota a gota un volumen de solución acuosa al 37% p/v de formaldehído igual al 40% del volumen de metanol. La solución se agita a 0 °C durante una hora y a continuación se calienta hasta temperatura ambiente y se agita durante 48 horas. La solución se vierte entonces sobre hielo picado (100 g de hielo por 1 g de ácido 3-cloro-2-hidroxibenzoico). El precipitado se filtra a continuación y se aclara con agua enfriada con hielo. El producto bruto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice usando una mezcla de cloroformo, tetrahidrofurano y ácido fórmico como eluyente. El producto se seca a continuación bajo vacío. ¹H RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 7,78 ppm (d, 2H, J = 2,25 Hz), 7,60 ppm (d, 2H, J = 2,25 Hz), 3,99 ppm (s, 2H). ¹³C RMN (100,6 MHz, acetona-d₆) δ 172,28, 157,13, 137,02, 133,22, 129,85, 122,37, 114,61, 39,43 ppm. El producto se disuelve en etanol de manera que la concentración es igual a 5 mmol por 30 ml. A continuación, se añade a la solución un volumen de trietilamina igual al 50% del volumen de etanol. Se añade a continuación paladio sobre carbono (5%, 30 mg por 1 g de 5,5'-metilen-bis(ácido 3-cloro-2-hidroxibenzoico) y la solución se agita bajo una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 48 horas. El catalizador a continuación se separa por filtración, el disolvente se evapora y se añade un volumen de agua (55 ml por 1 g de producto). La solución se enfría y a continuación se acidifica mediante la adición de ácido clorhídrico concentrado. El precipitado se separa por filtración y se aclara con agua enfriada en hielo. ¹H RMN (300 MHz, acetona-d₆): δ 7,77 ppm (d, 2H, J = 2,25 Hz), 7,42 ppm (dd, 2H, J = 8,55 Hz y 2,25 Hz), 6,90 ppm (d, 2H, J = 8,55 Hz), 3,95 ppm (s, 2H). ¹³C RMN (100,6 MHz, acetona-d₆) δ 172,59, 161,36, 137,23, 133,04, 130,95, 118,15, 113,27, 40,13 ppm. El producto (0,1 g) se disolvió en 5 ml de anhídrido acético (Sigma). Se añadió 4-(N, N-dimetilamino)piridina (DMAP, 0,03 gramos, Sigma) a la mezcla. La reacción de acetilación se realizó a temperatura ambiente durante 24 h en el agitador magnético. Se añadió hielo triturado (50 g). Se añadió acetato de etilo (20 ml) a la mezcla de reacción, que a continuación se dejó a temperatura ambiente durante 30 min. Se recogió la capa superior (capa de acetato de etilo) y se lavó con agua desionizada 3 veces. Se recogió la capa de acetato de etilo y se secó a temperatura ambiente durante 24 h. ¹H RMN (300 MHz, acetona-d₆): δ 7,98 ppm (d, 2H, J = 2,21 Hz), δ 7,54 ppm (dd, 2H, J = 8,25 Hz y 2,21 Hz), 87,12 ppm (d, 2H, J = 8,25 Hz), δ 4,16 ppm (s, 2H), δ 2,22 ppm (s, 6H). Este análisis demostró un 95% de pureza de DAS-2.

45 **[0023]** Una realización adicional adecuada para la síntesis y la separación de DAS-1 y DAS-2 es la siguiente.

[0024] Se vierten aproximadamente 70 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) en un vaso de precipitados en hielo. Se añaden aproximadamente 10 gramos de nitrito de sodio (NaNO₂). En algunas realizaciones, se añade el nitrito de sodio en porciones durante un período de aproximadamente 30 minutos. En algunas realizaciones, la temperatura de la mezcla de reacción es inferior a 5 °C. A continuación, se añaden aproximadamente 20 gramos de ácido acetilsalicílico (ASA). En algunas realizaciones, la adición de ASA es en porciones durante un período de 20 minutos mientras se agitaba. A continuación, se añade gota a gota una solución de formaldehído al 30%. En algunas realizaciones, se añade la solución de formaldehído durante un período de aproximadamente 30 minutos. En algunas realizaciones, la temperatura de la mezcla de reacción es inferior a 5 °C. A continuación, se añaden aproximadamente 200 gramos de hielo directamente al vaso de precipitados, seguido de la adición de aproximadamente 300 ml de agua fría. La mezcla de reacción se agita durante 18 h a temperatura ambiente. El polvo de color marrón claro resultante se separa por filtración y se seca. Para separar los productos, se disuelve el polvo en metanol. A continuación, la solución (4,5 mg en 1 ml) se puede cargar en una columna de cromatografía de exclusión por tamaño (Sephadex LH-20, GE Healthcare, Piscataway, NJ, empaquetada en metanol al 60%). Se pueden recoger dos fracciones de eluyente. Pueden analizarse mediante espectrometría de masas en un aparato Waters ZQ equipado con una fuente de iones ESCI y un detector Waters Alliance de cuadrupolo. La separación de los productos DAS-1 y DAS-2 se puede verificar mediante este procedimiento.

65 **[0025]** En algunas realizaciones, los procedimientos anteriores pueden escalarse para la producción en volumen.

El sistema del complemento

[0026] Tal como se muestra en la Figura 1, el sistema del complemento consiste en dos vías principales: la clásica y la alternativa. Las vías tienen diferentes mecanismos opsonizantes, pero tienen en común el ensamblaje de los componentes terminales para formar el complejo de ataque a membrana (C5b-9). Hay numerosas maneras mediante las cuales las vías pueden activarse. Zymosan, un glucano que se encuentra en la superficie de los hongos, se utiliza como un activador estándar para muchos tipos de ensayos experimentales. Induce la activación de la vía clásica, donde una diana que puede estar presente necesita ser fagocitada. El componente C1q del complejo C1 reconoce Zymosan. A continuación, se inducen las etapas posteriores, que implican la disociación del complejo C1, la escisión de C2, C4 y C3 para proporcionar la amplificación, así como la unión covalente de los componentes del complemento activado a la diana. Mediante este medio, la diana puede disponerse por los fagocitos que tienen receptores para los componentes del complemento activados así unidos. También puede inducirse la vía alternativa. En esta vía, la properdina (P) se une a la diana causando que el C3b soluble se una también. A continuación, se une al factor B al complejo. A continuación, el factor D soluble escinde el Factor B unido para formar el PC3bBb altamente activo, que inmediatamente escinde más C3, creando PC3bBbC3b, también conocido como C3 convertasa.

[0027] Ambas vías dan lugar a la escisión de C5 en C5a y C5b. El fragmento C5b liberado puede entonces insertarse por sí mismo en las membranas de las células próximas. C6, C7, C8 y C9 (n) pueden entonces unirse de forma secuencial a las membranas. La adición de C9 hace que el complejo sea funcional mediante la apertura de los agujeros en las membranas, lo que conduce a la muerte de las células. Su propósito fisiológico es matar patógenos exógenos, pero la sobreactivación puede dar lugar a la destrucción de las células huésped mediante un fenómeno conocido como lisis "bystander".

[0028] El sistema del complemento, por tanto, opera en dos partes. La primera parte es la opsonización, que prepara tejido diana para la fagocitosis. La segunda parte es el ensamblaje del complejo de ataque a membrana, que tiene el propósito de matar células. La primera es esencial, pero la segunda no lo es. Por ejemplo, aproximadamente el 0,12% de los japoneses son homocigotos para la mutación CGA-TGA no codificante (parada en arginina 95) en el exón 4 de C9. Estos individuos no pueden producir un complejo de ataque a la membrana que funciona. Esto significa que hay más de 150.000 japoneses que llevan una vida sana a pesar de esta deficiencia. La misma mutación se encuentra en aproximadamente el 0,16% de los coreanos, lo que indica que hay cerca de 40.000 personas en la República de Corea que también llevan una vida sana. Por tanto, los inventores han determinado a partir de la experiencia japonesa y coreana que la inhibición selectiva de la formación del complejo de ataque a membrana en una base a largo plazo es una estrategia terapéutica viable.

[0029] El complejo de ataque a la membrana exagera la patología en todas las enfermedades donde se produce la activación aberrante del complemento. Entre las enfermedades inflamatorias crónicas y/o degenerativas relevantes se incluyen, pero no se limitan a, artritis reumatoide, hemoglobinemia paroxística nocturna, síndrome hemolítico urémico atípico, esclerosis múltiple, neuromielitis óptica, infección de la malaria, enfermedad de Alzheimer, degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, esclerosis lateral amiotrófica y aterosclerosis. Entre las enfermedades inflamatorias de la piel relevantes se incluyen, pero no se limitan, alopecia androgenética (calvicie), acné, quemaduras térmicas o por rayos ultravioleta, dermatitis atópica, dermatitis seborreica/caspa, alopecia cicatricial primaria, pénfigo, psoriasis, lupus eritematoso discoide y dermatitis herpetiforme.

DAS-1 y DAS-2 como inhibidores selectivos del complejo de ataque a membrana y C3 convertasa

[0030] Tal como se discutió anteriormente, la activación del complemento que supera las limitaciones de los sistemas de protección del huésped puede dar lugar a la autolesión al tejido huésped viable. Los inventores han descubierto que los dímeros de ácido acetilsalicílico, pero no el ácido acetilsalicílico en sí, confieren protección contra dicha autolesión. Los dímeros de ácido acetilsalicílico, tales como DAS-1 y DAS-2, lo hacen mediante el bloqueo de la actividad de C3 convertasa no deseada de la vía alternativa, así como el ensamblaje de MAC no deseado en la etapa final de C9 además de C5b678 de las vías alternativa y clásica, tal como se muestra en la Figura 1.

[0031] La estructura y el peso molecular (PM) de DAS-1 y DAS-2, según realizaciones de ejemplo, se muestran en las Figuras 2A y 2B. La figura 2A muestra la estructura de DAS-1 (C₁₈, H₁₄, O₈) y la correspondencia entre esa estructura y el peso molecular del producto sintetizado, tal como se determina mediante análisis espectrográfico de masas. El análisis se llevó a cabo en el modo +1 dando un valor +1 (359) por encima del PM real de 358. La figura 2B proporciona datos similares para DAS-2 (C₁₉, H₁₆, O₉) que muestra su PM mediante análisis espectrográfico de masas en el modo +1 dando un valor de 373 que es +1 por encima del peso PM real de 372.

[0032] Para evaluar la fuerza de bloqueo de la vía clásica del complemento logrado por DAS-1 y DAS-2, se empleó un ensayo CH50 estándar. Se sensibilizaron glóbulos rojos humanos normales mediante incubación una noche con anticuerpo anti-glóbulos rojos de conejo. A continuación, se incubaron diluciones de suero activadas por zymosan, con y sin varias cantidades de DAS-1, DAS-2 o el precursor de ácido acetilsalicílico, con los glóbulos rojos sensibilizados durante 1 hora a 37 °C. Los incubados se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min. La hemoglobina liberada en el suero de los glóbulos rojos que habían sido destruidos por el ataque del complemento, se determinó mediante la lectura

de la densidad óptica (DO) a 405 nm. Como control positivo, glóbulos rojos se lisaron al 100% con agua y como control negativo, no se añadió suero al incubado.

5 **[0033]** Los resultados se muestran en la Figura 3. Glóbulos rojos humanos protegidos por DAS-1 y DAS-2 del ataque del complemento por suero activado con zimógeno de ser humano, rata, gato y perro. La Figura 3A ilustra el resultado para DAS-1. Los valores de IC₅₀ fueron 208 nM para el ser humano, 294 nM para rata, 168 nM para gato y 142 nM para suero de perro. La Figura 3B ilustra los datos comparables para DAS-2. Los valores de IC₅₀ de suero fueron 113 para el ser humano, 167 para rata, 128 para gato y 98 para perro. La Figura 3C muestra que el precursor, el ácido acetilsalicílico, no produjo efecto protector incluso cuando se añadió a 1 mM, que es una concentración más de 10.000 veces mayor que para DAS-1 y DAS-2.

15 **[0034]** Para determinar en qué etapa de la cascada del complemento se estaba produciendo el bloqueo, se llevó a cabo una variación del ensayo CH50. En lugar de medir la hemólisis, se llevaron a cabo análisis de transferencia Western de membranas de los glóbulos rojos para determinar qué proteínas del complemento de suero se convertían en productos del complemento activados que se unían a las membranas susceptibles. Dicha unión sólo se produce hasta la etapa de bloqueo. En etapas más allá del bloqueo, se mantienen sin cambios en el suero. Los resultados se muestran en las figuras 4 y 5. Se trató suero humano no diluido durante 30 min con DAS-1, DAS-2, o ácido acetilsalicílico. A continuación, se añadieron glóbulos rojos conjugados a anticuerpo un volumen igual. Las mezclas se incubaron a 37 °C durante 1 h. Se trataron, a continuación, con un tampón de lisis, seguido de un tampón de carga para transferencias Western. Se cargaron cantidades iguales de proteína de cada muestra en geles y se separaron mediante SDS-PAGE al 10%. Después de SDS-PAGE, las proteínas se transfirieron a una membrana de PVDF. Las membranas se trataron a continuación con diferentes anticuerpos primarios seguidos de anticuerpos secundarios marcados utilizando técnicas bien establecidas. La lista de anticuerpos que se utilizaron se muestra en la Tabla 1.

25 Tabla 1. Anticuerpos y péptidos utilizados para los experimentos.

| Anticuerpos y proteínas | Compañía | Dilución/concentración final |
|---|---------------------------------------|--|
| Antisuero de cabra policlonal para C1q humano | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-C3b de ratón monoclonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-C3d de ratón monoclonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-C4d de ratón monoclonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-C5/C5a de ratón monoclonal | Abcam, Cambridge, MA | 1/2.000 |
| Ab anti-C6 de cabra policlonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-C7 de cabra policlonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-C8 de cabra policlonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-C9 de cabra policlonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 |
| Ab anti-properdina de ratón monoclonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 para transferencia western (figura 5) |
| Ab anti-properdina de conejo policlonal | Abcam, Cambridge, MA | 1/100 para eliminar la properdina de suero humano (figura 4) |
| Ab de factor Bb monoclonal | Quidel, San Diego, CA | 1/2.000 (figura 5) |
| Ab de factor D monoclonal | Abcam, Cambridge, MA | 1/2.000 para transferencia western (figura 5) y 1/100 para eliminar el factor D de suero humano (figura 4) |
| Ab anti-IgG humana de cabra con HRP | Sigma, St. Louis, MO | 1/2.000 |
| Ab anti-IgG humana de ratón con HRP | Invitrogen, Carlsbad, CA | 1/2.000 |
| Proteína properdina humana | Quidel, San Diego, CA | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína factor D humana | Quidel, San Diego, CA | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína factor B humana | Sigma, St. Louis, MO | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C2 humana | Sino Biologicals Inc., Beijing, China | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C3 humana | Sigma, St. Louis, MO | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C4 humana | Complement technology Inc., Tyler, TX | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C5 humana | Complement technology Inc., Tyler, TX | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C6 humana | Sigma, St. Louis, MO | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C7 humana | Quidel, San Diego, CA | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C8 humana | Sigma, St. Louis, MO | 32 ng/ml (figura 6) |
| Proteína C9 humana | Sigma, St. Louis, MO | 32 ng/ml (figura 6) |
| Inhibidor de C1 | Quidel, San Diego, CA | 1,8 µg/ml (figura 5) |

[0035] Las bandas reconocidas por los anticuerpos se visualizaron mediante el uso de un sistema de quimioluminiscencia potenciada y la exposición a una película fotográfica. Para sondear la misma membrana con diferentes anticuerpos, las membranas se trataron con tampón de extracción y después se trataron como antes con un anticuerpo primario diferente.

[0036] Los resultados típicos para el bloqueo de la vía clásica se muestran en la Figura 4A. El carril de la izquierda se cargó con sólo el suero y muestra que las bandas para C1q, C3, C4 y C5 se detectaron fácilmente. El carril adyacente ilustra el efecto de la adición al zymosan en suero para activar el complemento, y los anticuerpos para properdina y Factor D para bloquear la vía alternativa. A continuación, los glóbulos rojos sensibilizados se hemolizan mediante el ataque por vía clásica. Las proteínas séricas nativas se consumen y se incorporan en las membranas de los glóbulos rojos. C1q no se metabolizó, pero la banda se intensificó debido a su disociación del complejo C1. C3 nativo ya no se detectó porque se había escindido, y el fragmento C3b se había unido covalentemente a la membrana. Se detectó su producto de degradación C3d. C4 ya no se detectó debido a que de manera similar se había escindido y el fragmento C4b se unió a la membrana y metabolizó en su producto de degradación C4d. También se detectó este fragmento. C5 se escindió y se detectó una banda para el producto C5a. Por último, se detectó el complejo de ataque a membrana C5b-9, que se había formado en la membrana de glóbulos rojos provocando su hemólisis.

[0037] Los siguientes dos carriles muestran los efectos de la incubación en presencia de DAS-1, DAS-2. Se detectaron bandas idénticas para las etapas de opsonización, pero los glóbulos rojos no se hemolizaron y no se detectó el complejo de ataque a membrana. Esto establece que el bloque proporcionado por DAS-1 y DAS-2 era en la fase de ensamblaje de MAC.

[0038] Para determinar en qué etapa del ensamblaje se bloqueaba el complejo de ataque a la membrana, se llevaron a cabo transferencias Western adicionales y las membranas se sondearon con anticuerpos para C6, C7, C8 y C9. Los resultados se muestran en la Figura 4B. El carril 1 para suero humano solo muestra que C6, C7, C8 y C9 se detectaron fácilmente en el suero no tratado. El carril 2 muestra que en los glóbulos rojos no protegidos que se han hemolizado por ataque del complemento, estos anticuerpos detectaron solamente C5b-9, el complejo de ataque a membrana completamente formado. El carril 3, en el que las células se han protegido por DAS-1, muestra que el complejo de ataque a membrana no se forma completamente, sino que se detiene en la etapa C8. El anticuerpo C6 detectó C5b6, C5b67, y C5b678. El anticuerpo C7 detectó C5b67 y C5b678, mientras que el anticuerpo C8 detectó C5b678. El carril 4 en el que las células se han protegido por DAS-2 muestra los mismos resultados que en el carril 3. Estos datos establecen que DAS-1 y DAS-2 detienen la formación del complejo de ataque a membrana en la etapa en que C9 se une a C5b678. Dado que se requiere C9 (n) para crear los agujeros que destruyen membrana, este bloqueo es altamente específico para la prevención de la unión de C9.

[0039] Para determinar los efectos de DAS-1 y DAS-2 en la vía alternativa, se llevaron a cabo otros experimentos, tal como se muestra en la figura 5. El carril 1 en las transferencias Western muestra las bandas detectadas en el suero normal; el carril 2 los efectos cuando el suero normal (dilución de 15 veces) se activó con zymosan con la vía clásica bloqueada con inhibidor de C1 (1,8 microgramos/ml); el carril 3 los efectos de añadir DAS-1; y el carril 4 los efectos de añadir DAS-2 (ambos a 1 microM). A estas mezclas, se añadieron glóbulos rojos humanos (5×10^9). Las mezclas se incubaron durante 1 h a 37 °C y se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min. Los sedimentos se lavaron dos veces con solución salina equilibrada de Hank (HBSS) y se trataron con tampón de carga de muestra para SDS-PAGE e inmunotransferencia. El tampón consistía en Tris 50 mM (pH 6,8), SDS al 0,1%, azul de bromofenol al 0,1% y glicerol al 10%. Para conservar los complejos moleculares que se habían formado, se siguieron condiciones suaves para SDS-PAGE. El tampón de carga de la muestra usado fue Tris 50 mM (pH 6,8), SDS al 1%, azul de bromofenol al 0,1% y glicerol al 10% y beta-mercaptoetanol al 2%.

[0040] La Figura 5 muestra los resultados cuando se revelaron transferencias Western con anticuerpos monoclonales para la properdina (1/2.000), C3b (1/2.000), Factor B/Bb (1/2.000) y factor D (1/2.000), respectivamente. El carril 1 en cada transferencia muestra que se detectaron las proteínas nativas en el suero no tratado. El carril 2 muestra que en el suero que ha sido activado por zymosan en presencia de inhibidor de C1, se detectaron bandas similares en las membranas de glóbulos rojos por anticuerpos para properdina, C3b y Factor B/Bb correspondiente en PM a PC3b (-240 kDa), PC3bB (-340 kDa), PC3bBb (-300 kDa) y PC3bBbC3b (> 410 kDa). Estos datos muestran que la C3 convertasa y la C5 convertasa estaban presentes en las membranas. Sin embargo, no se detectó una banda independiente para C3b. Este resultado indica que C3b requería properdina para unirse y dirigir su unión a las membranas de los eritrocitos. El anticuerpo para Factor D no detectó ninguna banda para el factor D, lo que indica que el Factor D no formó ningún complejo estable con SDS en las membranas. Los carriles 3 y 4 muestran los resultados obtenidos en presencia de 1 microM de DAS-1 o DAS-2. Las bandas para PC3bBb y PC3bBbC3b no se formaron. En cambio, aparecieron bandas intensas para las etapas anteriores de PC3b y PC3bB. Estos resultados indican que la detención de la activación se produjo en la etapa donde PC3bB es escindido por el Factor D para formar la enzima C3 convertasa. Proporcionan una evidencia adicional de que Factor D no forma un enlace estable unido a las membranas, sino que permanece en el suero.

[0041] El siguiente conjunto de experimentos ensayaron directamente la unión de DAS-1 y DAS-2 a properdina, Factor D y proteínas del complemento. Estas proteínas se inmovilizaron sobre placas de micropocillos en un intervalo de concentración de 1-32 ng/ml. A continuación, se añadieron DAS-1 y DAS-2 a una concentración de 100 microgramos/ml

y las soluciones se incubaron tal como se ha descrito anteriormente. La unión de DAS-1 y DAS-2 a las proteínas se ensayó a continuación según un procedimiento fluorométrico publicado previamente, excepto que la frecuencia de excitación era de 290 nM y la frecuencia de emisión de 348 nM. La Figura 6A muestra los resultados para DAS-1 y la Figura 6B resultados idénticos para DAS-2. DAS-1 y DAS-2 se unieron fuertemente a Factor D y C9. Dicha unión explica por qué DAS-1 y DAS-2 bloquean la vía alternativa en la etapa donde el Factor D escinde PC3B para formar PC3Bb, y tanto la vía clásica como alternativa en la etapa donde C9 se añade a C5b678. Sin embargo, otras proteínas del complemento, tales como C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 y Factor B (32 ng/ml de cada uno) no se unieron a DAS-1 o DAS-2. No hubo unión de DAS-1 o DAS-2 a la properdina y sólo se observó la fluorescencia de base. Este resultado es consistente con las observaciones de que la unión de la properdina a membranas de eritrocitos no está afectada por DAS-1 y DAS-2.

Aplicabilidad de la invención al tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas

[0042] Los dímeros de ácido acetilsalicílico, según la reivindicación 1, son útiles en procedimientos de prevención y/o tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas mediadas por el complemento mediante administración sistémica, incluyendo oral.

[0043] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la hemoglobinemia paroxística nocturna. La hemoglobinemia paroxística nocturna resulta de una deficiencia clonal en los eritrocitos del gen PIGA del cromosoma X. Como consecuencia, el resto de glicosil fosfatidilinositol necesario para anclar proteínas de membrana, tales como CD 55 y CD 59, no es funcional. Los eritrocitos y las plaquetas carecen de la capacidad para restringir la activación de la superficie celular de la vía alternativa. Los pacientes están sujetos a ataques trombóticos y hemolíticos mortales. Un tratamiento que es parcialmente eficaz es administrar a intervalos quincenales el anticuerpo monoclonal eculizumab, que bloquea la escisión de C5, evitando la síntesis del complejo de ataque a membrana. Sin embargo, este tratamiento es menos que satisfactorio, siendo eficaz en la prevención de transfusiones en sólo el 49% de los pacientes (Hillmen et al. 2006). Una razón probable es que no bloquea la actividad de la C3 convertasa. La actividad de la C3 convertasa no está regulada debido a la deficiencia de CD 55 (Parker 2002). Se espera que DAS-2 y sus isómeros prevengan y/o traten la hemoglobinemia paroxística nocturna, ya que estos compuestos previenen la formación del complejo de ataque a membrana y bloquean la actividad de C3 convertasa.

[0044] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar el síndrome hemolítico urémico atípico. El síndrome hemolítico urémico atípico es una enfermedad crónica y mortal causada por el auto-ataque del sistema del complemento. Es principalmente debido a mutaciones en el factor H, que entonces no protege las células de la activación de la vía alternativa. Entonces se produce una lesión en las células endoteliales, eritrocitos y glomérulos renales que con frecuencia conducen a la insuficiencia renal (Jokiranta et al. 2006). Se espera que DAS-2 y sus isómeros prevengan y/o traten el síndrome hemolítico urémico atípico, ya que estos compuestos inhiben el sistema del complemento, incluyendo la vía alternativa, mediante el bloqueo de la actividad de C3 convertasa y la prevención de la formación del complejo de ataque a membrana.

[0045] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la artritis reumatoide. Hay una fuerte evidencia de que las vías clásica y alternativa del complemento se activan patológicamente en la artritis reumatoide (Okroj et al. 2007). La articulación artrítica contiene proteínas capaces de activar el complemento, así como proteínas, lo que significa que las vías clásica y alternativa se han activado. En modelos de ratón de la artritis reumatoide, la resistencia se puede lograr mediante la eliminación de C3, C5, o Factor B (Okroj et al. 2007). Estos datos indican que DAS-2 y sus isómeros deben ser eficaces en la prevención y/o tratamiento de la artritis reumatoide.

[0046] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la esclerosis múltiple. La esclerosis múltiple es una enfermedad remitente-recidivante caracterizada por la inflamación de la sustancia blanca del cerebro. Se han detectado anticuerpos específicos que reconocen antígenos de la mielina, lo que indica que es un trastorno autoinmune (Compston et al., 1989). El complemento se activará en este proceso, lo que indica la idoneidad de DAS-2 y sus isómeros en la profilaxis y/o terapia.

[0047] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la infección de la malaria. La malaria es una enfermedad prevalente en África y el sur de Asia, dando lugar a 650.000 muertes estimadas por año. El agente infeccioso, Plasmodium falciparum, transmitido por mosquitos, produce mejora una activación mejorada del complemento en seres humanos y animales susceptibles. Los complejos de IgG e C3bBb se han identificado en los eritrocitos de seres humanos infectados, lo que indica un daño causado por la activación de las vías tanto clásica como alternativa (Silver et al. 2010). En consecuencia, la prevención y/o tratamiento con DAS-2 y sus isómeros deben ser eficaces.

[0048] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la enfermedad de Alzheimer. Durante mucho tiempo se ha sabido que los depósitos de

proteína beta amiloide en el cerebro, que se cree que son la causa principal de la enfermedad, pueden ser identificados por los componentes opsonizantes del complemento. Se demostró que esto era debido a la unión de C1q a la proteína beta amiloide (Rogers et al., 1992). También se demostró que el complejo de ataque a la membrana del complemento decoraba las neuritas dañadas en la proximidad de los depósitos, lo que indica una autolesión por el sistema del complemento (McGeer et al., 1989). Tomados en conjunto, estos datos ilustran que los aspectos opsonizantes del complemento necesitan conservarse para que pueda ocurrir la fagocitosis de los depósitos de beta amiloide, mientras que el complejo de ataque a membrana necesita ser bloqueado selectivamente, de manera que se puede eliminar la autolesión a las neuronas huésped. Por estas razones, DAS-2 y sus isómeros deben ser un profiláctico y/o tratamiento eficaz para la enfermedad de Alzheimer.

[0049] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la degeneración macular relacionada con la edad. Los componentes de opsonización del complemento se han identificado en asociación con drusas, que son los depósitos extracelulares asociados con la enfermedad. El complejo de ataque a membrana se ha encontrado cerca de las células epiteliales del pigmento retinal en degeneración. Los análisis genéticos han revelado que todos los polimorfismos en Factor H, el factor B del complemento, y C3 influyen significativamente en el riesgo de padecer degeneración macular relacionada con la edad (Anderson et al., 2010). Estos datos ilustran que los aspectos opsonizantes del complemento necesitan conservarse de manera que se pueda producir la fagocitosis de drusas, mientras que el complejo de ataque a membrana necesita ser bloqueado selectivamente para que pueda eliminarse la autolesión a las células epiteliales del pigmento retinal. Por estas razones, DAS-2 y sus isómeros deben ser un profiláctico y/o tratamiento eficaz para la degeneración macular relacionada con la edad.

[0050] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la aterosclerosis. La aterosclerosis, en general, no se ha considerado que sea exacerbado por el sistema del complemento. Sin embargo, el ARNm para la proteína C reactiva, un conocido activador del complemento, se regula por incremento más de diez veces en el área de las placas ateroscleróticas. Las áreas de placa que muestran una regulación por incremento de la proteína C reactiva y los componentes de opsonización del complemento también demuestran la presencia del complejo de ataque a membrana (Yasojima et al., 2001). Este es un ejemplo adicional de una afección degenerativa humana común donde el complejo de ataque a la membrana está presente en una situación estéril y por lo tanto sólo puede dañar el tejido huésped. Una vez más, la invención descrita en el presente documento conservará el aspecto estimulante de la fagocitosis deseable de complemento, mientras que elimina el aspecto de autolesión del complejo de ataque a membrana. Por estas razones, DAS-2 y sus isómeros deben ser un tratamiento profiláctico y/o terapéutico eficaz para la aterosclerosis.

Aplicabilidad de la invención a afecciones inflamatorias de la piel

[0051] Los dímeros de ácido salicílico, tales como DAS-2, son útiles en procedimientos de prevención y/o tratamiento de afecciones inflamatorias de la piel mediadas por el complemento mediante aplicación tópica. En algunas realizaciones, las afecciones inflamatorias de la piel prevenidas y/o tratadas implican autolesionar la activación del complemento. El término "afección inflamatoria de la piel", tal como se usa en el presente documento se refiere a una condición de la piel o el cuero cabelludo que se caracteriza por uno o más de irritación, formación de ampollas, enrojecimiento, descamación, calor localizado, dolor, picor y daño/destrucción del folículo piloso.

[0052] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la alopecia androgénica (calvicie) es la forma más común de pérdida de cabello en los hombres. Se inicia después de la pubertad, con pérdidas iniciales que tienen lugar en las áreas temporal y occipital. Por lo general, avanza a la calvicie que cubre todo el cuero cabelludo excepto por un borde que se extiende alrededor de las regiones periféricas. La causa es generalmente reconocida como una vulnerabilidad de los folículos pilosos en estas áreas a los andrógenos, en particular la dihidrotestosterona (DHT) (Garza et al. 2012). La DHT interactúa con el receptor de andrógenos (AR) y son los altos niveles de este receptor que se presume que crean la vulnerabilidad. El gen para la AR se encuentra en Xq11-Xq12. Los análisis genéticos han demostrado que las variantes en el receptor están asociados con la alopecia androgénica (Hillmer et al. 2005) y, especialmente, con un gen cercano llamado receptor de ectodisplasia 2A (EDA2R) (Prodi et al. 2008). El producto del gen es una proteína transmembrana de la super familia del receptor de factor de necrosis tumoral. Hasta la fecha no hay una explicación de por qué la activación de estos receptores por la DHT debe dar lugar a la desaparición de los folículos pilosos en la alopecia androgénica. Los tratamientos para la calvicie se han desarrollado sobre la base de la reducción del sustrato para estos receptores, o el aumento de la circulación del cuero cabelludo. Los ejemplos incluyen minoxidil, un dilatador arterial que se ha utilizado por vía sistémica y tópica para promover el crecimiento del cabello. Finasteride, que bloquea la conversión por la 5-alfa reductasa de testosterona a DHT, ha sido aprobado para la pérdida del cabello. Sin embargo, ninguno de estos enfoques, o de otros que son totalmente empíricos, proporciona alguna idea en cuanto al mecanismo que realmente causa la desaparición de los folículos pilosos. La aplicación tópica de DAS-2 y sus isómeros debe ser eficaz como agentes profilácticos y/o terapéuticos, mediante el bloqueo de ataque del complemento de naturaleza duradera, permitiendo así el recrecimiento folicular de queratinocitos.

[0053] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar el acné. El acné es una afección de la piel que normalmente comienza durante la

adolescencia. Se caracteriza por la seborrea, comedones rodeados por áreas eritematosas, pústulas y nódulos, especialmente de la zona facial y el torso superior. Se han intentado muchos tratamientos, pero ninguno de ellos es un éxito completo. El antioxidante peróxido de benzoilo es de uso común, pero aumenta la sensibilidad al sol. Sin embargo Knor informa que en *P. acnés*, se produce la inmunidad mediada humoral y celular, así como la activación del complemento. DAS-2 y sus isómeros deben ser eficaces como agentes profilácticos y/o terapéuticos debido al bloqueo de la activación aberrante del complemento en esta afección.

[0054] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar quemaduras solares y quemaduras térmicas. Wan et al. describieron un fuerte aumento en C3d en pacientes con quemaduras, así como el Factor Ba, lo que indica la activación de la vía alternativa del complemento. Las fluctuaciones durante un año sugirieron que se indujo la inflamación crónica (Wan et al. 1998). Kang et al., en un estudio de pacientes con quemaduras de tercer grado en más del 60% de la superficie total del cuerpo, encontró el consumo del complemento debido a la activación con la supervivencia estando asociada con la recuperación de este sistema (Kang et al 2003). Dichas quemaduras deben responder al tratamiento por DAS-2 y sus isómeros debido a su eficacia en el bloqueo de la activación aberrante del complemento.

[0055] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la dermatitis atópica o alérgica. La dermatitis atópica o alérgica se produce cuando el sistema inmunitario de la piel ataca un alérgeno u otro irritante (Seah PP et al, 1973; Triolo et al 2003; Gober y Gaspari 2008). Los queratinocitos pueden dañarse por este ataque excesivo. A través del bloqueo de la activación no deseada del complemento, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

[0056] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar pénfigo. El pénfigo es un trastorno potencialmente fatal donde en el que hay un ataque autoinmune contra desmogleína, la proteína adhesiva que forma la unión de las células epidérmicas adyacentes. La deposición del complejo de ataque a membrana se ha descrito (Kawana S, et al. 1989). Mediante el bloqueo de la activación del complemento perjudicial, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

[0057] La dermatitis herpetiforme es una afección que se caracteriza por una erupción cutánea extremadamente picante. Está relacionada con intolerancia al gluten y el ataque inmunitario contra la proteína transglutaminasa epidérmica (Preisz et al. 2005). Mediante la inhibición de la vía alternativa en las etapas de adición de la C3 convertasa y C9, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

[0058] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la psoriasis. La psoriasis es una enfermedad común de la piel que se caracteriza por una respuesta inmunitaria (Triolo et al., 2003) que puede estar asociada con la artritis reumatoide (Ballanti et al., 2011). Actualmente no existe un tratamiento eficaz. Al inhibir la activación del complemento perjudicial, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

[0059] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar lupus eritematoso discoide. El lupus eritematoso discoide es un trastorno autoinmune que es altamente exacerbado por la luz solar. Se trata actualmente con esteroides tópicos, indicativos de la eficacia del bloqueo inmunológico. Se ha descrito que el complemento se activa incluso en piel no lesionada de pacientes con lupus eritematoso sistémico (Alahfafi et al 2005). La deposición de C5b-9 se encontró en la epidermis de dichos pacientes (Magro et al 1996). Mediante el bloqueo de la activación del complemento perjudicial, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

[0060] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la alopecia cicatricial primaria (PCA). La PCA es un trastorno de la piel en la que las células madre epiteliales del folículo piloso están dañadas o destruidas por sucesos inflamatorios (Harries et al. 2009). Las células madre afectadas residen en la vaina radicular externa de protuberancias del folículo piloso (Harries et al. 2009). Esta es un área que hipotéticamente es inmunológicamente privilegiada (Meyer et al. 2008). La pérdida de dicho privilegios inmunológicos da lugar a un ataque inmunológico, de manera que los folículos pilosos son reemplazados por tejido cicatrizal, con pérdida de pelo (Harries et al., 2010). Un soporte del tratamiento son los esteroides tópicos. Dado que la inflamación activa el sistema del complemento, mediante el bloqueo de esta activación del complemento perjudicial, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

[0061] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la dermatitis seborreica y la caspa. La dermatitis seborreica y la caspa son causados por una pérdida excesiva de corneocitos de la capa externa de la epidermis (Scwartz et al., 2013). Se sospecha de la disfunción inmunitaria (Mills et al. 2012). Los corneocitos se adhieren entre sí creando copos que a continuación se desprenden. La patogénesis parece ser el resultado de las interacciones entre la piel del cuero cabelludo, la microflora cutánea y el sistema inmunitario cutáneo (Kerr et al. 2011). Una causa propuesta es el hongo *Malassezia* (Gemmer et al. 2002). Se detecta un aumento de los niveles de marcadores inflamatorios en muestras de biopsia, incluyendo IL-1 beta y IL-1RA (Kerr et al. 2011). Al bloquear la consiguiente activación del complemento, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

5 [0062] Según una realización, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o tratar la alopecia areata. La alopecia areata es una afección en la que hay pérdida de cabello, generalmente del cuero cabelludo. Se caracteriza por una infiltración linfocítica alrededor de los folículos vulnerables, de manera que el crecimiento del cabello desaparece. El tratamiento estándar es corticosteroides tópicos apropiados para una respuesta inflamatoria, o minodoxil, un dilatador capilar que estimula el crecimiento del cabello. Sin embargo se ha descrito que la deposición de los componentes del complemento C3, C5 y C9 se depositan en los folículos pilosos del cuero cabelludo en sujetos con alopecia areata (Igarashi et al 1981). Al bloquear esta activación del complemento perjudicial que acompaña a la inflamación, DAS-2 y sus isómeros deben ser agentes profilácticos y/o terapéuticos eficaces.

Modos sistémicos de suministro y dosificación

15 [0063] Para los trastornos inflamatorios crónicos y/o degenerativos mediados por complemento, tales como hemoglobinemia paroxística nocturna, degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad de Alzheimer, artritis reumatoide, aterosclerosis, síndrome hemolítico urémico atípico, esclerosis múltiple, infección de malaria, enfermedad de Pick, enfermedad de Parkinson y neuromielitis óptica, el uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico, tal como DAS-2 y sus isómeros, se pueden administrar por vía oral o parenteral.

20 [0064] Según algunas realizaciones, se pueden administrar uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico por vía oral en forma de comprimidos, cápsulas, píldoras, pastilla, gránulos, polvo, suspensión, emulsión, líquido, jarabe, y similares. El uno o más dímeros pueden combinarse con portadores farmacéuticos aceptables. En algunas realizaciones, los portadores farmacéuticamente aceptables pueden prolongar la liberación, mejorar la eficacia y/o disminuir el metabolismo de los ingredientes eficaces. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables incluyen lactosa, sacarosa, manitol, aceite de ricino hidrogenado, sorbitol, dextrina, almidón, ácido esteárico, propilenglicol, celulosa y otros ingredientes que son bien conocidos para los expertos en la técnica.

30 [0065] Según algunas realizaciones, uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico se pueden administrar por vía parenteral, tal como por vía intravenosa, subcutánea, y por medio de inyección directa. El uno o más dímeros pueden combinarse con portadores farmacéuticamente aceptables, tales como agua destilada, solución salina, soluciones salinas equilibradas y otros portadores que son bien conocidos para los expertos en la técnica. Estos modos pueden ser, por ejemplo, deseables en situaciones en las que la administración oral no era posible, o donde fueran necesarias o deseables altas concentraciones en algunos sitios localizados.

35 [0066] Generalmente, las dosis parenterales terapéuticamente eficaces de los compuestos de la presente invención para un paciente variarán de aproximadamente 50 mg a 10 gramos por día dependiendo de la indicación y las necesidades de cada sujeto particular.

Modos tópicos de suministro y dosificación

40 [0067] Para las afecciones inflamatorias de la piel mediadas por complemento, tales como la alopecia androgenética, quemadura térmica o por rayos ultravioleta, acné, dermatitis atópica, caspa/ dermatitis seborreica, pénfigo, eritematosis, alopecia cicatricial y alopecia areata, el uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico, tales como DAS-2 y sus isómeros, se pueden administrar por vía tópica. Para la aplicación tópica, la administración puede ser en forma de un pulverizador, crema, pomada, gel, loción, lavado, champú o pastilla, disolviéndose o suspendiéndose el uno dímeros en un vehículo aceptable farmacéuticamente adecuado. Ejemplos de tales vehículos son la glicerina como un gel, aloe vera como una pomada, lauril sulfato de sodio más cocamidopropil betaina como un champú, y aceite de eucalipto y pectina para una pastilla.

50 [0068] Según algunas realizaciones, uno o más de dímeros de ácido acetilsalicílico se pueden administrar en forma de una preparación para el cuidado de la piel, preparación para el cuidado del cabello o una composición farmacéutica formulada para la aplicación a las áreas afectadas de la piel o el cuero cabelludo de un paciente. Dichas preparaciones o composiciones pueden formularse, por ejemplo, como un pulverizador, gel, crema, loción, barra, pomada, exfoliante, pastilla de jabón, tónico, formulación "roll-on", protector solar, champú o espuma, en las que el uno o más de dímeros de ácido acetilsalicílico se proporciona en una cantidad terapéuticamente efectiva junto con al menos un portador, de manera que sea capaz de ejercer un efecto terapéutico sobre afecciones inflamatorias de la piel en la piel o el cuero cabelludo del paciente. El uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico pueden proporcionarse en dichas preparaciones o composiciones a una concentración de 0,1 a 100 mg/ml, o de 0,1 a 10 mg/ml, o de 0,5 a 5 mg/ml, y se pueden aplicar tópicamente sobre la zona o zonas afectadas de una a cinco veces al día, por ejemplo.

60 [0069] En algunas realizaciones, las preparaciones o composiciones pueden también incluir uno o más de tensioactivos, propulsores, codisolventes, agente gelificante, y otros ingredientes adecuados para su uso en preparaciones del cuidado de la piel o del cabello del tipo conocido en la técnica, tales como vaselina, ceras, aceites, plastificantes, conservantes, fragancias y similares.

65

[0070] En algunas realizaciones, las preparaciones o composiciones se pueden aplicar a la piel o al cuero cabelludo de un paciente usando botellas o recipientes (por ejemplo, champús), tubos (por ejemplo, geles, cremas, pomadas, lociones), botes a presión (por ejemplo, pulverizadores, espumas), almohadillas, palillos o aplicadores "roll-on" (por ejemplo, geles, pomadas).

5

[0071] En algunas realizaciones, las preparaciones o composiciones se pueden formular para formar una película sobre la piel o el cuero cabelludo, lo que permite la liberación controlada y la penetración del uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico, tales como DAS-1 y DAS-2 y sus isómeros, en las zonas afectadas.

10

[0072] En algunas realizaciones, el uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico pueden proporcionarse a una concentración de 0,1 a 100 mg/ml, o de 0,1 a 10 mg/ml, o de 0,5 a 5 mg/ml, en una base de champú acuoso que comprende los tensioactivos de lauril sulfato de sodio y cocamidopropil betaína, para la aplicación al cuero cabelludo.

15

[0073] En algunas realizaciones, el uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico pueden proporcionarse a una concentración de 0,1 a 100 mg/ml, o de 0,1 a 10 mg/ml, o de 0,5 a 5 mg/ml, en una pomada que comprende glicerina, para aplicación a la piel o el cuero cabelludo.

20

[0074] En algunas realizaciones, el uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico pueden proporcionarse a una concentración de 0,1 a 100 mg/ml, o de 0,1 a 10 mg/ml, o de 0,5 a 5 mg/ml, en un gel que comprende aloe vera, para aplicación a la piel o el cuero cabelludo.

25

[0075] En algunas realizaciones, el uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico se pueden disolver a una concentración de 0,1 a 100 mg/ml, o de 0,1 a 10 mg/ml, o de 0,5 a 5 mg/ml, en agua y se aplican como un pulverizador o por otros medios a la zona de la piel o el cuero cabelludo afectado.

30

[0076] En algunas realizaciones, el uno o más dímeros de ácido acetilsalicílico pueden proporcionarse a una concentración de 0,1 a 100 mg/ml, o de 0,1 a 10 mg/ml, o de 0,5 a 5 mg/ml, en una formulación de protección solar que comprende uno o más ingredientes de protección solar activos conocidos.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto seleccionado del grupo que consiste en:
5,5'-metilenbis (ácido 2-acetoxibenzoico),
5 ácido 2-acetoxi-3-(4-acetoxi-3-carboxibencil)benzoico,
ácido 2-acetoxi-3-(3 acetoxi-4-carboxibencil)benzoico,
ácido 2-acetoxi-4-(4-acetoxi-3-carboxibencil)benzoico,
3,3'-metilenbis(ácido 2-acetoxibenzoico),
10 4,4'-metilen-bis(ácido 2-acetoxibenzoico),
y sales de los mismos.
2. Compuesto, según la reivindicación 1, que es 5,5'-metilenbis(ácido 2-acetoxibenzoico), o una sal del mismo.
3. Composición farmacéutica que comprende:
15 a. un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:
i. 5,5'-metilenbis(ácido 2-acetoxibenzoico),
ii. ácido 2-acetoxi-3-(4-acetoxi-3-carboxibencil)benzoico,
iii. ácido 2-acetoxi-3-(3-acetoxi-4-carboxibencil)benzoico,
20 iv. ácido 2-acetoxi-4-(4-acetoxi-3-carboxibencil)benzoico,
v. 3,3'-metilenbis(ácido 2-acetoxibenzoico), y
vi. 4,4'-metilen-bis(ácido 2-acetoxibenzoico); y
b. un portador farmacéuticamente aceptable.
4. Composición farmacéutica en la que el compuesto es
25 5,5'-metilenbis(ácido 2-acetoxibenzoico).
5. Compuesto, según la reivindicación 1, para utilizar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que
consiste en hemoglobinemia paroxística nocturna, degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad de
Alzheimer, artritis reumatoide, aterosclerosis, síndrome hemolítico urémico atípico, esclerosis múltiple y malaria.
30
6. Compuesto, según la reivindicación 1, para utilizar en el tratamiento de un trastorno inflamatorio de la piel.
7. Compuesto, según la reivindicación 1, para utilizar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que
consiste en alopecia androgenética, quemadura térmica o por rayos ultravioleta, acné, dermatitis atópica,
35 caspa/dermatitis seborreica, pénfigo, eritematosis, alopecia cicatricial y alopecia areata.

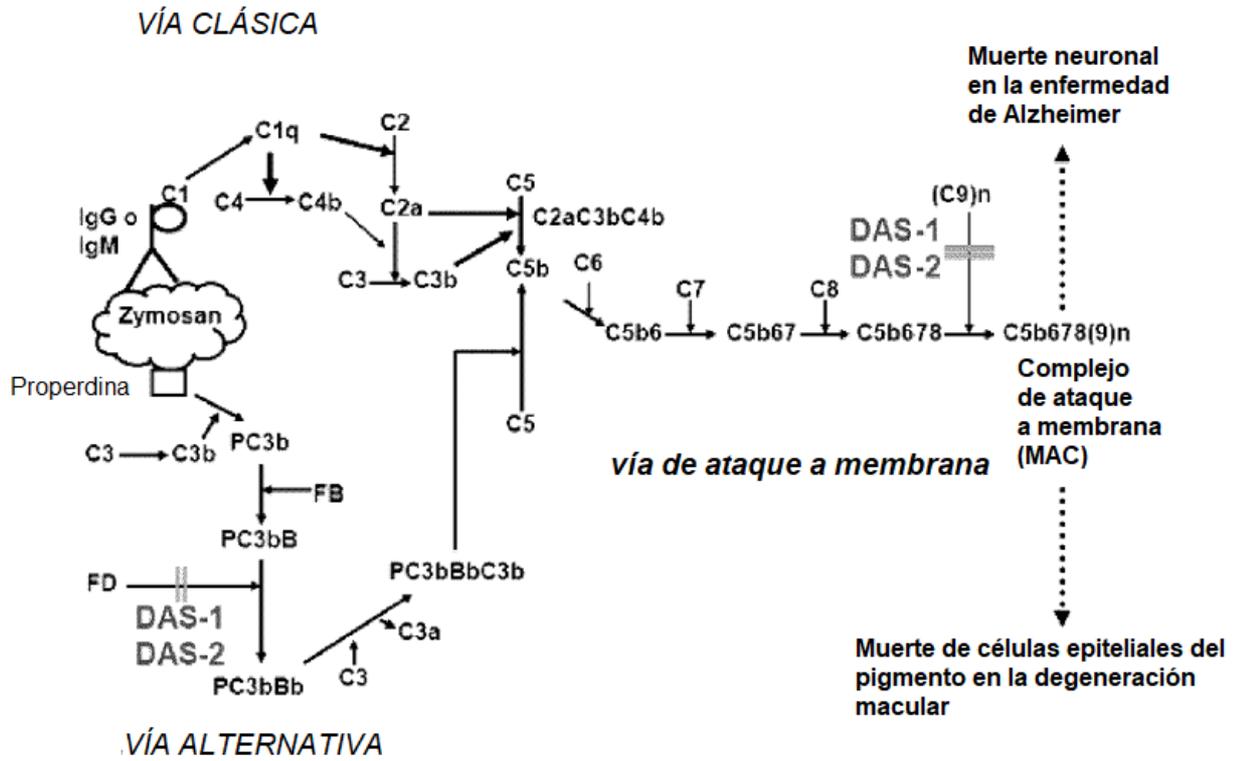


Figura 1

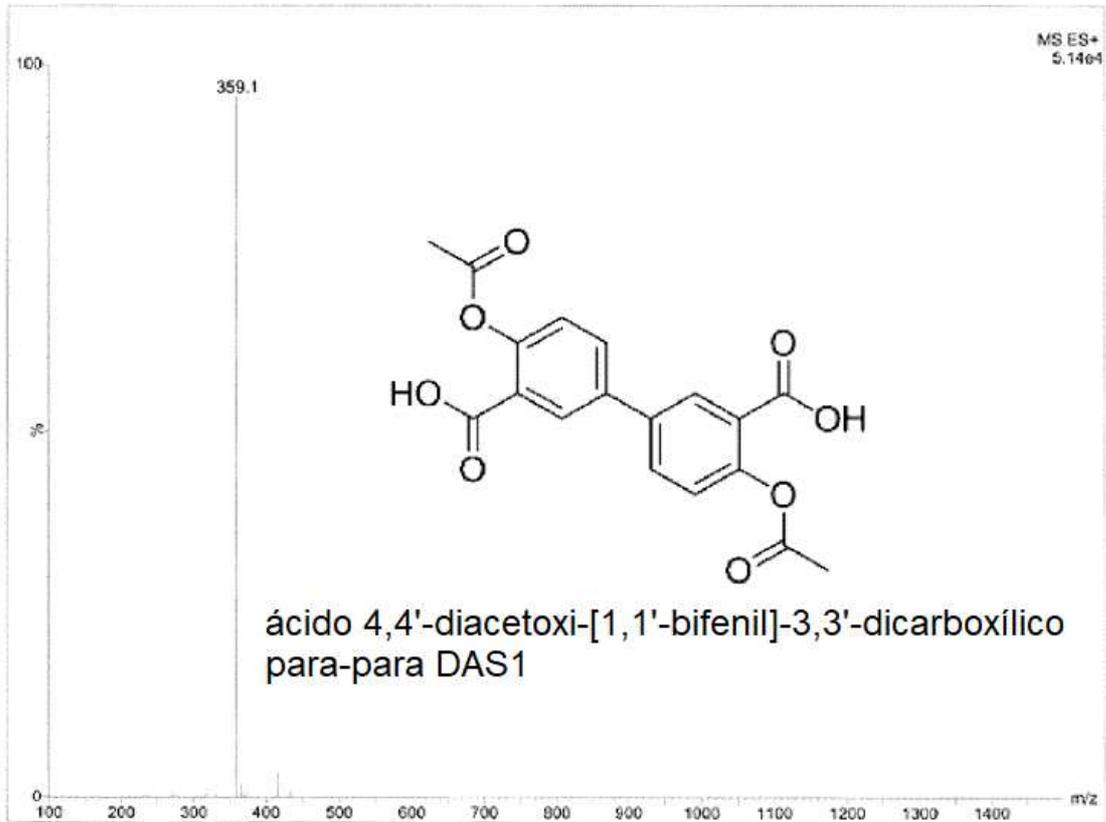


Figura 2A

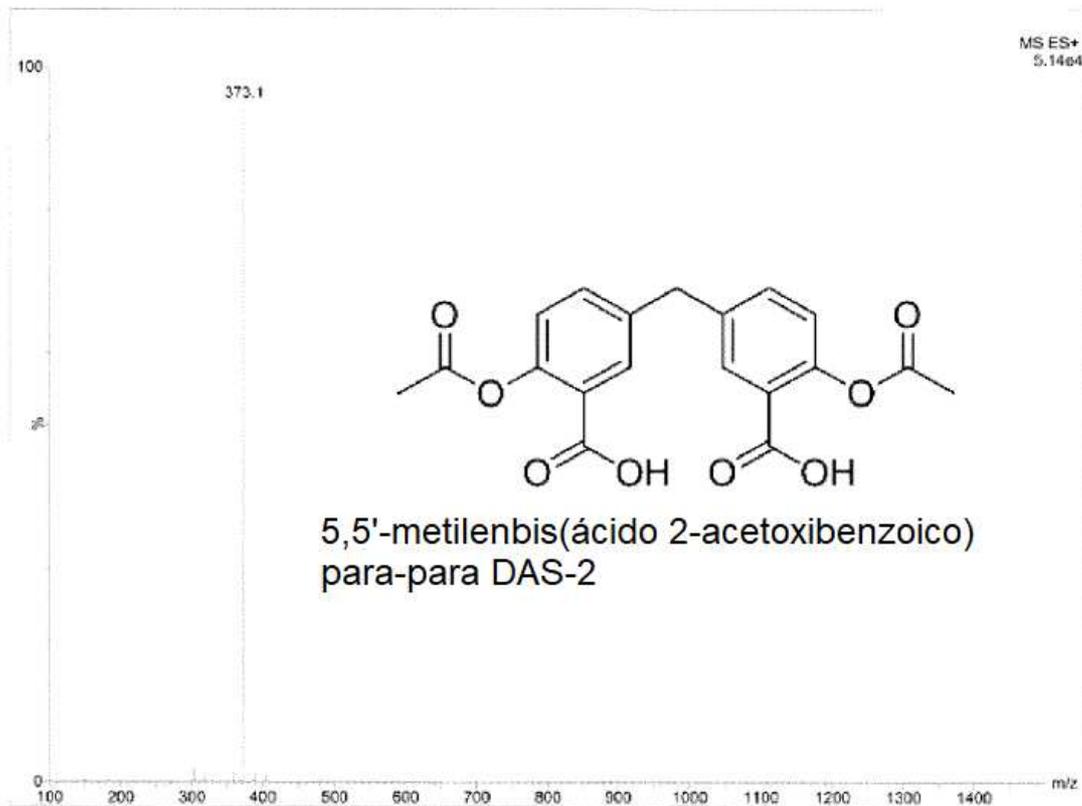
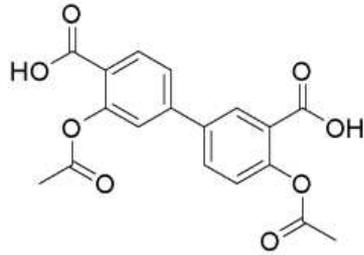
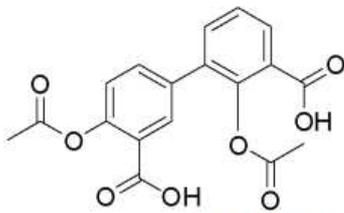


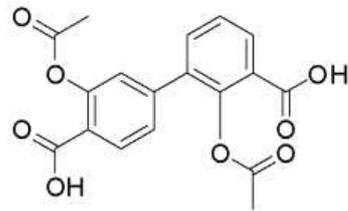
Figura 2B



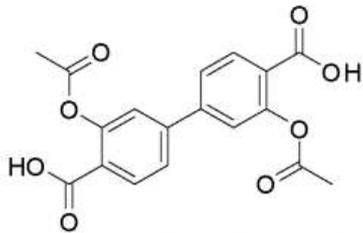
ácido 3',4'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,4'-
dicarboxílico para-meta DAS-1



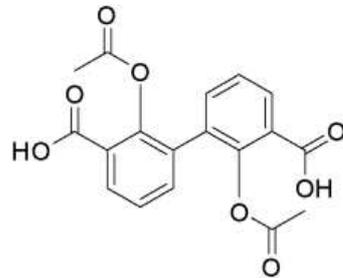
ácido 2,4'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,3'-
dicarboxílico para-orto DAS-1



ácido 2,3'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,4'-
dicarboxílico meta-orto DAS-1

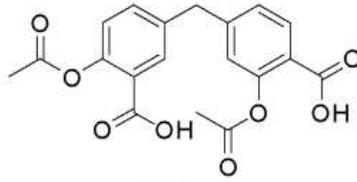


ácido 3,3'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-4,4'-
dicarboxílico meta-meta DAS-1

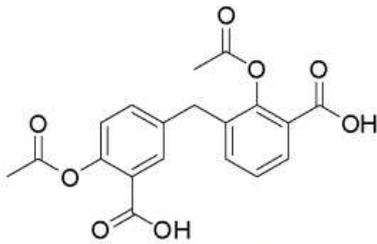


ácido 2,2'-diacetoxi-[1,1'-bifenil]-3,3'-
dicarboxílico orto-orto DAS-1

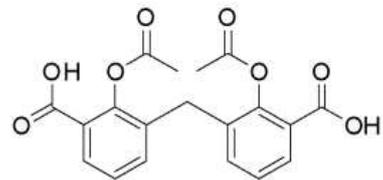
Figura 2C



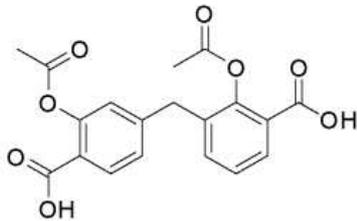
ácido 2-acetoxi-4-(4-acetoxi-3-carboxibencil)
benzoico para-meta DAS-2



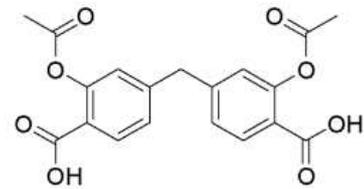
ácido 2-acetoxi-3-(4-acetoxi-3-carboxibencil)
benzoico para-orto DAS-2



3,3'-metilenbis(ácido 2-acetoxibenzoico)
orto-orto DAS-2



ácido 2-acetoxi-3-(3-acetoxi-4-
carboxibencil)benzoico orto-meta DAS-2



4,4'-metilenbis(ácido 2-
acetoxibenzoico) meta-meta DAS-2

Figura 2D

Figura 3A

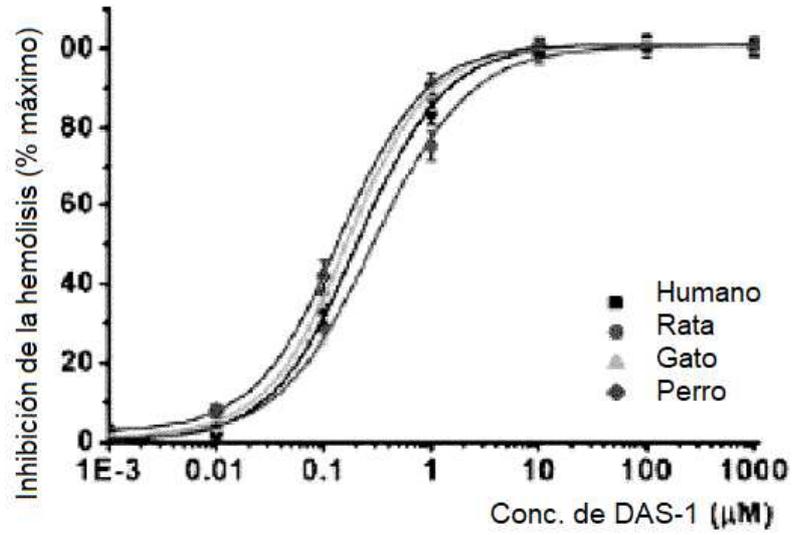


Figura 3B

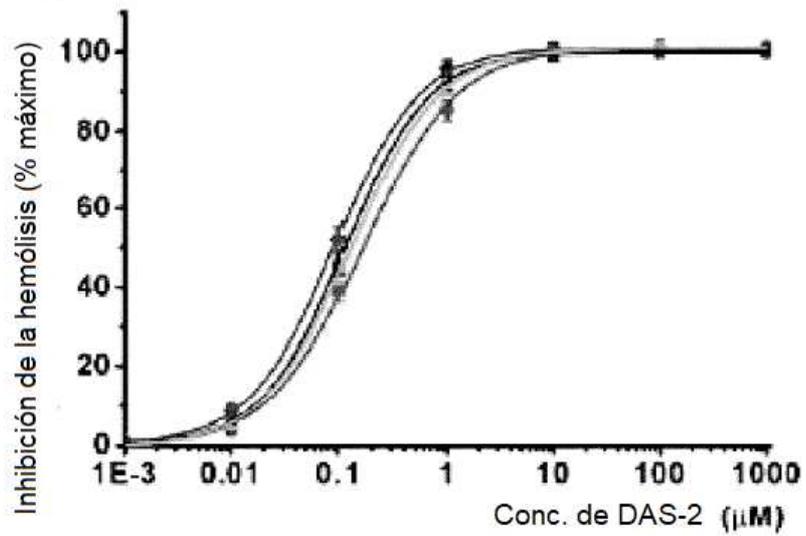
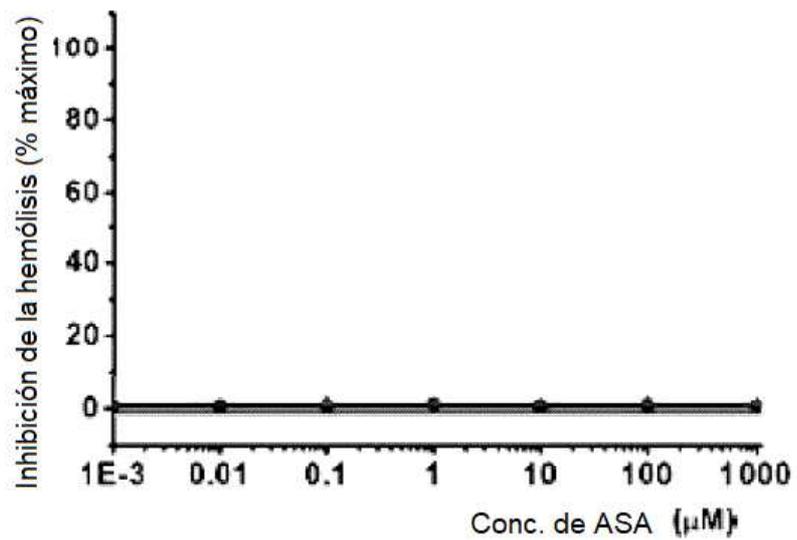


Figura 3C



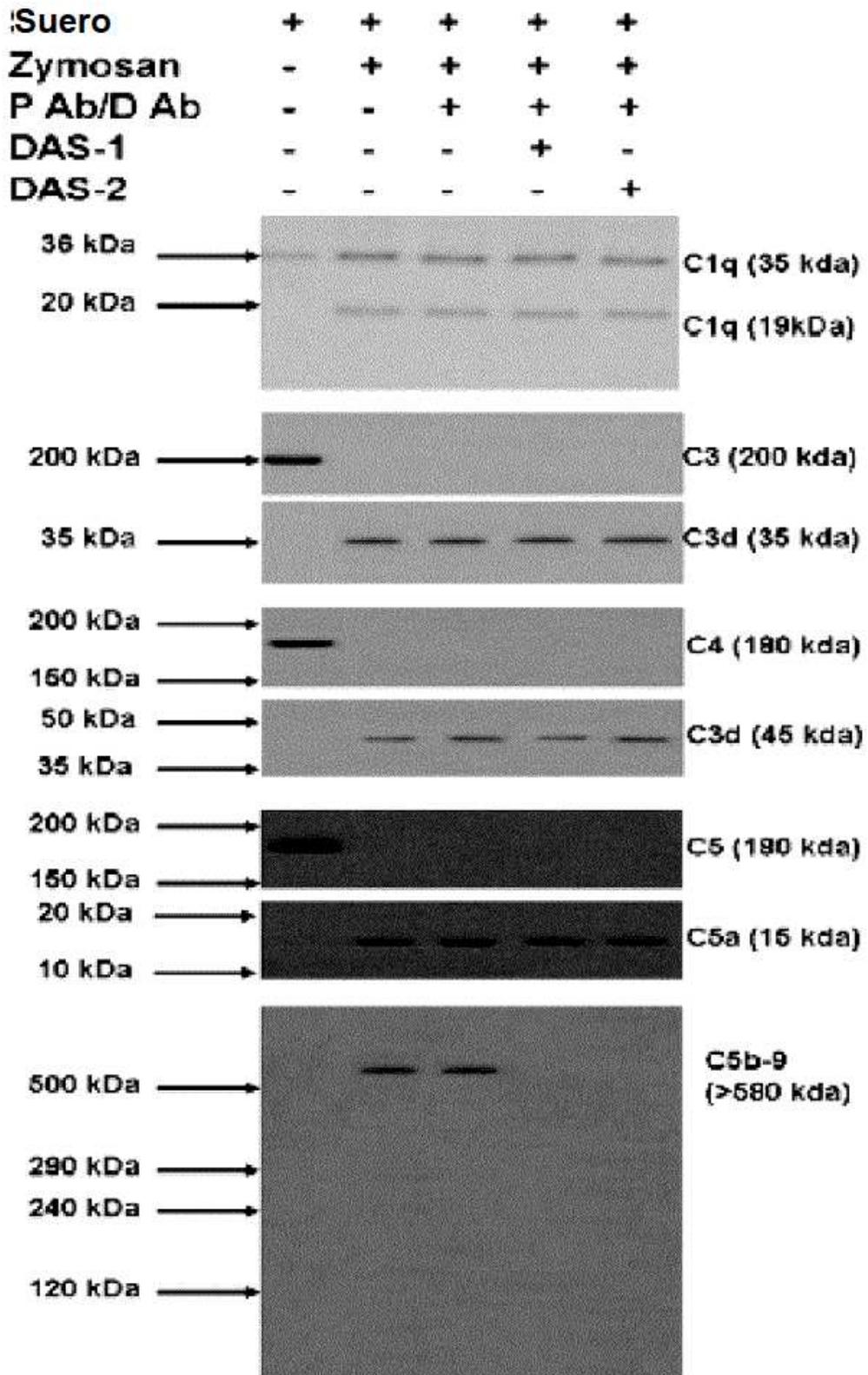


Figura 4A

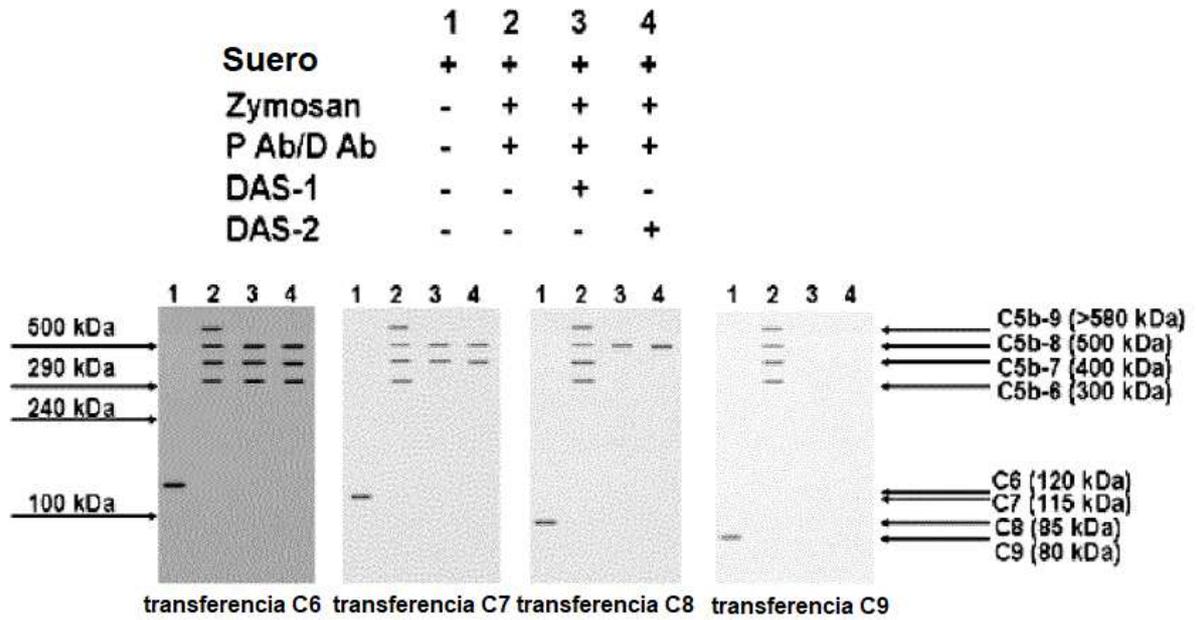


Figure 4B

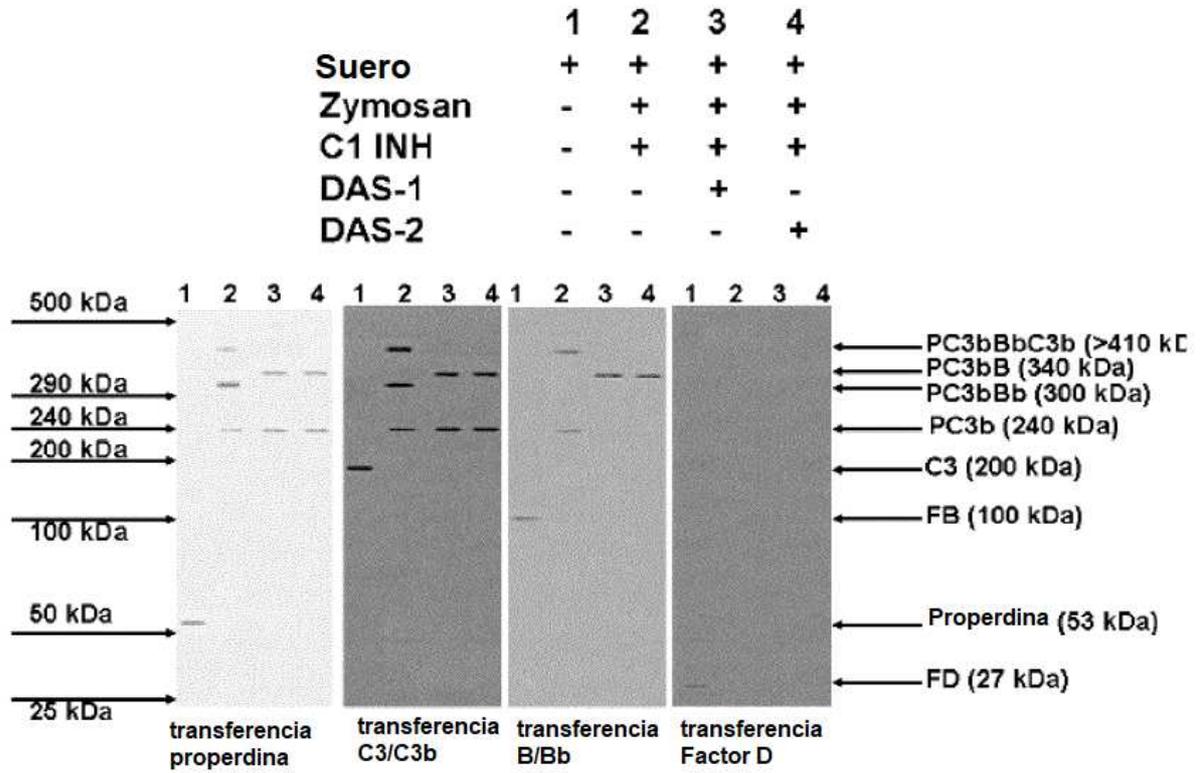


Figure 5

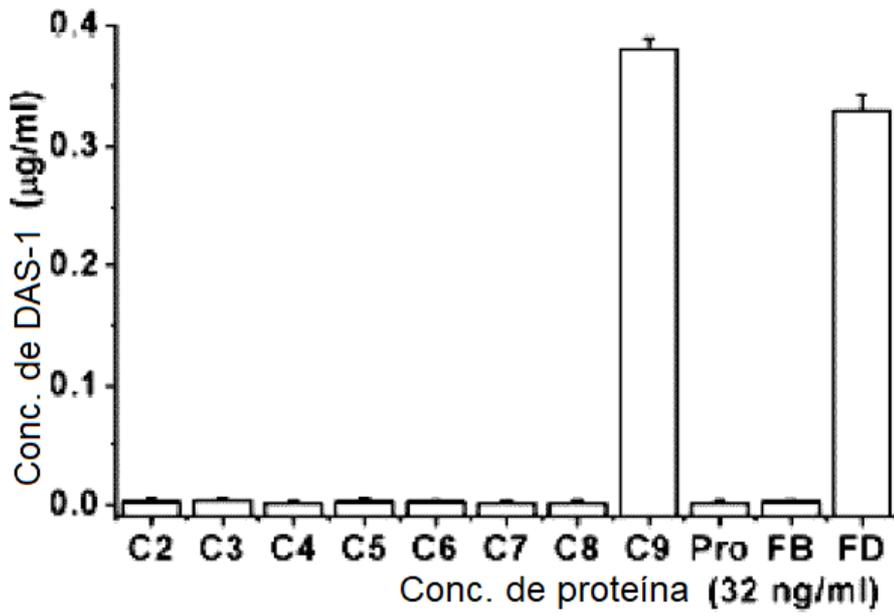


Figura 6A

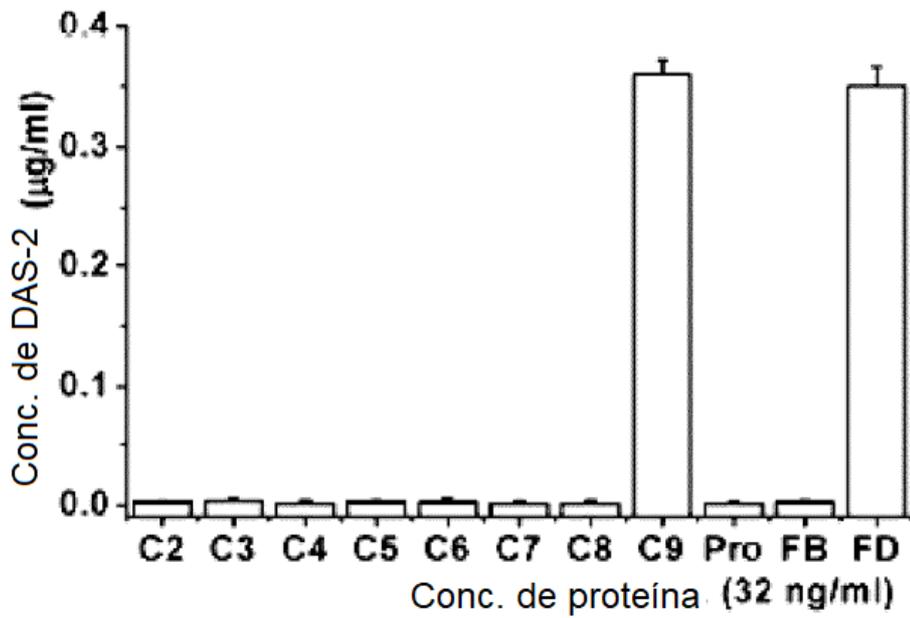


Figura 6B