

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 948 511**

21 Número de solicitud: 202130839

51 Int. Cl.:

C07D 307/56 (2006.01)
A61K 31/341 (2006.01)
A61P 19/06 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)
A61P 1/18 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

08.09.2021

43 Fecha de publicación de la solicitud:

13.09.2023

71 Solicitantes:

**FUNDACION PARA LA INVESTIGACION
BIOMEDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE
LA PRINCESA (90.0%)**
C/ Diego de León, 62 - 1ª Planta
28006 MADRID (Madrid) ES y
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTIFICAS (10.0%)**

72 Inventor/es:

EGEA MAIQUEZ, Francisco Javier;
NARROS FERNANDEZ, Paloma;
CERRADA GALVEZ, Laura;
PALOMINO ANTOLIN, Alejandra;
FARRE ALINS, Victor;
DECOUTY PEREZ, Celine;
LOPEZ RODRIGUEZ, Ana Belen y
MARCO CONTELLES, Jose Luis

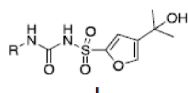
74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

54 Título: **DERIVADOS DE N-SULFONILUREAS Y SU USO TERAPÉUTICO**

57 Resumen:

Derivados de n-sulfonilureas y su uso terapéutico. La presente invención se refiere a una serie de compuestos derivados de N-sulfonilureas, compuestos de fórmula general (1), con actividad farmacológica inhibidora del inflamasoma NLRP3.



Se reivindica el uso de los compuestos referidos con la fórmula general (I) como agentes para el tratamiento de enfermedades preferentemente humanas que cursan con proceso inflamatorio, preferentemente mediado por lo que se conoce como inflamasoma, preferentemente del tipo denominado NLRP3. Entre estas enfermedades se encuentran las denominadas neurodegenerativas, como el Alzheimer y el Parkinson, las enfermedades inflamatorias, las enfermedades metabólicas, las autoinmunes y, en general, cualquier patología producida por la alteración de las funciones biológicas donde está implicado el inflamasoma NLRP3. La presente invención se puede enmarcar en el campo de la industria farmacéutica.

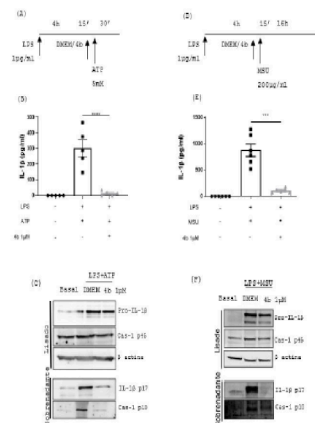


FIGURA 1

ES 2 948 511 A1

DESCRIPCIÓN**DERIVADOS DE N-SULFONILUREAS Y SU USO TERAPÉUTICO****5 ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR**

El inflammasoma NLRP3 se activa ante una gran variedad de estímulos de origen patogénico y endógeno, conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) o a daño (DAMPs). La activación del inflammasoma conlleva su ensamblaje y el procesamiento y liberación de las citoquinas proinflamatorias IL-1 β e IL-18, encargadas de iniciar y propagar la respuesta inflamatoria (Nat Rev Immunology, 2019, 8:477-489). Dada la heterogeneidad de señales capaces de activar el inflammasoma, cabe esperar su implicación en diversas enfermedades de un amplio rango. La sobre activación del inflammasoma NLRP3 se ha relacionado con patologías de inflamación crónica como la gota, la artritis reumatoide o la enfermedad de Crohn (Journal of Inflammation research, 2011, 4, 39-49), enfermedades del sistema nervioso central tales como el Alzheimer, el Parkinson, el ictus o el traumatismo craneoencefálico (Frontiers in Molecular Neuroscience, 2018, 11, 320), alteraciones cardiovasculares, incluyendo la aterosclerosis (Translational Research 2020, 215, 75-85) y el infarto de miocardio (Nat Rev Cardiology, 2018, 15, 203-214), patologías metabólicas como la diabetes (Biomolecules, 2019, 9, 850), o de carácter autoinmune, tales como la dermatitis por contacto y la psoriasis (Dermatology, 2016, 232:534-540). Además de estas enfermedades, en cuya progresión se ve implicado el inflammasoma, existen un grupo de patologías originadas directamente por mutaciones de ganancia de función en el gen que codifica para la proteína NLRP3. Se trata de los síndromes asociados a criopirina (CAPS), un grupo de enfermedades raras autoinflamatorias, de herencia autosómica dominante, en el que se incluyen el síndrome de urticaria familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID) (Nat Rev Immunology, 2019, 8:477-489).

Aunque cada una de estas enfermedades tienen una epidemiología y una patofisiología propias, todas ellas se caracterizan por compartir alteraciones inflamatorias comunes, caracterizadas por la liberación descontrolada de citoquinas proinflamatorias, principalmente IL-1 β . Muchas de ellas son algunas de las enfermedades más incapacitantes y de mayor prevalencia en la población, como la gota (1-4% en la población general) (Journal of Advanced Research, 2017, 8, 495-511) o el ictus (1.1 millones de personas al

año en Europa) (European Journal of Neurology, 2006, 13:581-598). Además, la incidencia de estas patologías se espera que vaya en aumento debido al crecimiento de la esperanza de vida de la población. Estas razones sitúan al inflamasoma NLRP3 como una nueva y prometedor diana farmacológica para una gran variedad de patologías.

5 Actualmente existen varias terapias dirigidas frente a la ruta de Interleukina-1, estas actúan bien directamente sobre IL-1 β / IL-1 α o bien sobre su receptor, evitando así la respuesta inflamatoria desencadenada (Nat Rev Drug Discovery, 2012, 11(8):633-652). El primer fármaco desarrollado frente a IL-1 fue el Anakinra (Kineret ®). Anakinra es una versión recombinante del antagonista endógeno del receptor de IL-1 (IL-1RA), que inhibe de
10 manera competitiva la unión de IL-1 β e IL-1 α a su receptor. Su uso está aprobado por la FDA para el tratamiento de la artritis reumatoide y el NOMID, y por la EMA para la artritis reumatoide y para todos los fenotipos de CAPS. (Expert Review of Clinical Pharmacology, 2017, 10(8):855-864). Otro de los fármacos dirigidos frente a IL-1 es el Riloncept (Arcalyst ®). Éste fue aprobado en 2008 por la FDA para el tratamiento del FCAS y el
15 MWS, y un año después por la EMA para todos los CAPS, sin embargo, la EMA lo retiró del mercado en 2012 debido a su escasa comercialización en Europa. Riloncept es un constructo de la fracción extracelular del receptor de IL-1 (IL-1R1) y su proteína accesoria (IL-1RAP), fusionado a la región Fc de la inmunoglobulina humana G1 (IgG1-Fc). Este fármaco funciona como un señuelo para las IL-1 α y β , así como para IL-1RA, evitando que
20 se unan al receptor IL-1R1 y desencadenen la respuesta inflamatoria. (Expert Review of Clinical Pharmacology, 2017, 10(8):855-864). El último de los fármacos aprobados frente a interleukina-1 es el canakinumab (Ilaris ®). A diferencia de los dos anteriores, canakinumab es un anticuerpo monoclonal, basado en la estructura de la IgG1 humana. Canakinumab atrapa y neutraliza la IL-1 β en suero y evita así la unión a su receptor y
25 consecuente señalización. El tratamiento con Canakinumab para el FCAS y el MWS fue aprobado en 2009 por la FDA y por la EMA para todos los fenotipos de CAPS. Expert Review of Clinical Pharmacology, 2017, 10(8):855-864). Además de sus usos terapéuticos ya aprobados, actualmente se encuentran en marcha ensayos clínicos para el uso de Anakinra (1 fase II, 3 fase IV), Riloncept (1 fase III) y canakinumab (1 fase II, 2 fase III),
30 frente a diversas patologías como gota (Anakinra), COVID-19 (Anakinra), pericarditis recurrente (Riloncept) y cáncer de pulmón de células no pequeñas (Canakinumab), entre otros (REF: clinicaltrials.gov).

Sin embargo, a pesar de los resultados positivos que ejercen estos tratamientos sobre las patologías para las que están aprobados, presentan diversas limitaciones. La principal es
35 la vía de administración, subcutánea y de aplicación diaria (Anakinra), semanal

(Riloncept) o en el mejor de los casos cada 8 semanas (Canakinumab). Además, todos ellos presentan efectos secundarios comunes, principalmente reacciones en el sitio de inyección y aumento de infecciones, principalmente del tracto respiratorio superior, al tratarse de fármacos inmunosupresores (Expert Review of Clinical Pharmacology, 2017, 10(8):855-864). Parte de estos efectos secundarios se explican porque además de NLRP3, otros inflammasomas como NLRC4, AIM2 o NLPR1 se encargan del procesamiento y liberación de interleukina-1. La activación de estos inflammasomas ocurre frente a otros estímulos de origen vírico o bacteriano frente a los que NLRP3 no responde, por lo que bloquear toda la vía de señalización de interleukina-1 genera un efecto inmunosupresor no deseado. Además, estos fármacos dirigidos frente a interleukina-1 no evitan la liberación de otros factores proinflamatorios que tiene lugar como consecuencia de activación de NLRP3, como son IL-18 o la alarmina HMGB1 y otras moléculas liberadas junto con el contenido celular como consecuencia de la piroptosis que tiene lugar tras la activación del inflammasoma (Nat Rev Drug Discovery, 2018, 17(8):588-60). La falta de especificidad de los fármacos anti IL-1, los efectos secundarios que generan y su falta de eficacia frente a otros factores dependientes del inflammasoma hacen que el planteamiento de nuevos fármacos frente a estas patologías inflamatorias se dirija en torno a la inhibición selectiva del inflammasoma NLRP3.

A pesar de que se están realizando grandes esfuerzos por parte de la comunidad científica en el estudio del inflammasoma y el desarrollo de inhibidores, y algunos de ellos se encuentran en fases avanzadas de ensayos clínicos, a día de hoy ninguno de ellos ha sido aprobado como tratamiento para las patologías anteriormente mencionadas. Por estos motivos, proponemos la necesidad de generar nuevas moléculas inhibitoras del inflammasoma NLRP3, como son los compuestos derivados de N-Sulfonilureas.

Con estos precedentes, nos hemos propuesto la síntesis de análogos simplificados de **MCC950** {3-(1,2,3,5,6,7-hexahidro-s-indacen-4-il)-1-([4-(2-hidroxypropan-2-yl)furan-2-yl]sulfonyl)urea (Figura 1), donde se han eliminado los dos anillos de ciclopentano fusionados en torno al anillo de benceno, y reemplazados por sustituyentes más sencillos, según se esquematiza en la formula general **1b-14b** de la figura 1. Este diseño nos ha permitido la síntesis de un número significativo de compuestos mediante un protocolo sintético sencillo, que de acuerdo con el esquema retrosintético de la Figura 1, aprovecha la disponibilidad de los isocianatos comerciales **1a-14a** que ya incorporan los sustituyentes de diferente naturaleza química en distintas posiciones del anillo aromático unido a la urea, y la fácil y descrita metodología para la síntesis de 4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-sulfonamida (**15**)(Synth Commun 2003, 33: 2029–2043), compuesto clave en este

proceso. Siendo R en la figura 1 un anillo de benceno con diferente sustitución. En un solo caso, y en una realización similar, se reivindica además la obtención y uso de un compuesto análogo a MCC950 donde el anillo tricíclico de s-indaceno es reemplazado por 9H-fluoreno unido por el único carbono no aromático, compuesto **14b**. En suma, la selección de estos nuevos análogos de **MCC950** nos permitirá evaluar el efecto farmacológico de la eliminación de los dos anillos de ciclopentano en **MCC950**, simplificando la estructura, y tener datos para establecer un análisis de estructura actividad, que nos permita diseñar nuevos y más eficientes derivados de **MCC950**.

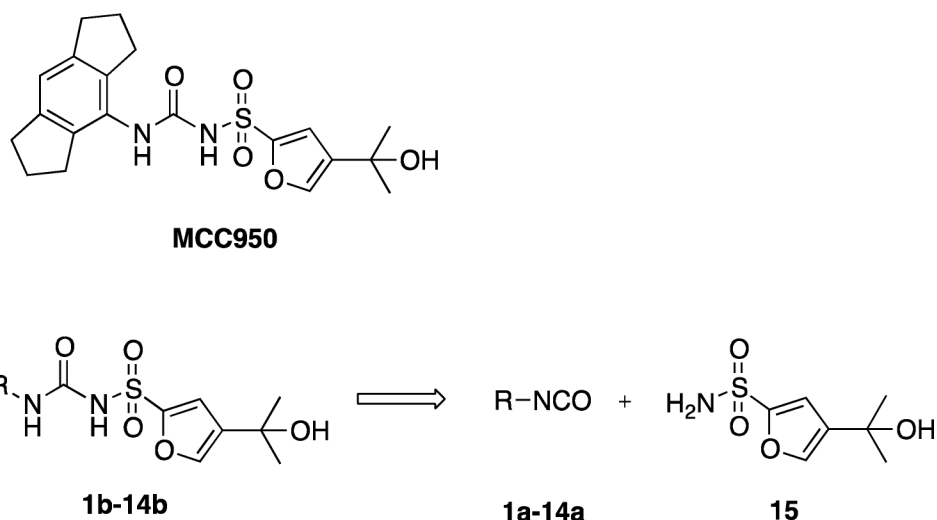


Figura 1. Estructura de **MCC950**, las nuevas *N*-sulfonilureas **1b-14b**, y los intermedios clave **1a-14a** y **15** de su síntesis.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención está relacionada con la capacidad de inhibidores de la activación de NLRP3 de ejercer efectos antiinflamatorios, a través de un mecanismo de acción que implicaría la inhibición de la liberación de citocinas pro-inflamatorias como IL-1beta. Estos efectos se han observado en la familia de compuestos descritos en la presente invención.

Más concretamente, la presente invención se refiere a una familia de compuestos con la característica estructural de ser derivados simplificados de MCC950 {(1,2,3,5,6,7-hexahidro-s-indaceno-4-il)carbamoil}((4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il)sulfonil)amida} de estructura general I y con la sustitución sobre el anillo de benceno según se refleja en la Figura 1, que presentan propiedades farmacológicas potencialmente útiles para el

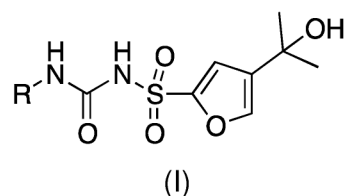
tratamiento de enfermedades que cursan con un proceso inflamatorio como, por ejemplo, la gota, la artritis reumatoide o la enfermedad de Crohn; enfermedades del sistema nervioso central tales como el Alzheimer, el Parkinson, el ictus o el traumatismo craneoencefálico; alteraciones cardiovasculares, incluyendo la aterosclerosis y el infarto de miocardio; patologías metabólicas como la diabetes; o de carácter autoinmune, tales como la dermatitis por contacto y la psoriasis.

En los estudios farmacológicos a los que han sido sometidos, los compuestos de la presente invención han mostrado una serie de actividades potencialmente muy útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, sin perjuicio de que en estudios más profundos, puedan aparecer nuevas propiedades biológicas de posible interés. Las actividades estudiadas, y que han mostrado resultados positivos, han sido:

- Inhibición de la liberación de IL-1beta en 3 modelos experimentales "in vitro".
- Efecto antiinflamatorio en un modelo "in vivo" de gota artrítica.
- Efecto antialodínico en un modelo "in vivo" de gota artrítica.

Como se ha descrito en el estado de la técnica anterior a la presente invención, y cada vez existe un mayor número de evidencias experimentales, la liberación descontrolada de IL-1beta, está fuertemente relacionada con la progresión de enfermedades de muy distinta etiología que comparten un componente inflamatorio como la gota, la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, el traumatismo craneoencefálico o la aterosclerosis, entre otras enfermedades.

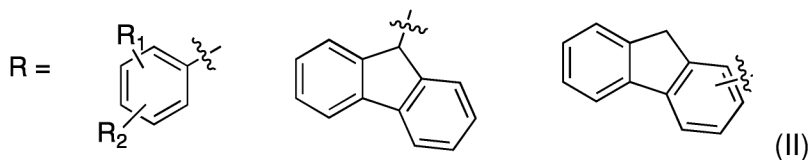
Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) (a partir de ahora compuestos de la invención):



donde:

R es un anillo de benceno o un anillo de 9H-fluoreno diferentemente unido al núcleo de sulfonilurea.

Cuando R es un anillo de benceno, este podrá tener sustitución química adicional según se detalla en la figura 2:



5

R1 y R2 son grupos iguales o distintos y se seleccionan cada uno de forma independiente de un grupo alquilo (metilo, etilo, o mayores cadenas hidrocarbonadas o fluorocarbonas, o sustituyentes bidentados, es decir, unidos doblemente al anillo de benceno), alcóxido (metóxido, etóxido, o mayores cadenas, o sustituyentes bidentados del tipo -O-alquilen-O-), amino y aminoalquil, halógenos, grupos nitro (=alquílicas) o, en general, cualquier sustituyente situado en cualquier posición.

El término "alquilo" se refiere en la presente invención a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, o mayores cadenas hidrocarbonadas o fluorocarbonas, etc. Preferiblemente el grupo alquilo tiene entre 1 y 3 átomos de carbono.

Por "compuesto de la invención" también se refiere en la presente invención a cualquiera de sus derivados, isómeros, sales farmacéuticamente aceptables, en cualquier de las posiciones ionizables, y/o solvato del mismo.

La posición relativa de R1 y R2 en el anillo de benceno puede ser indistintamente cualquiera de las posiciones del anillo de fenilo, es decir, posiciones orto, meta y para, y la combinación de estas químicamente posibles.

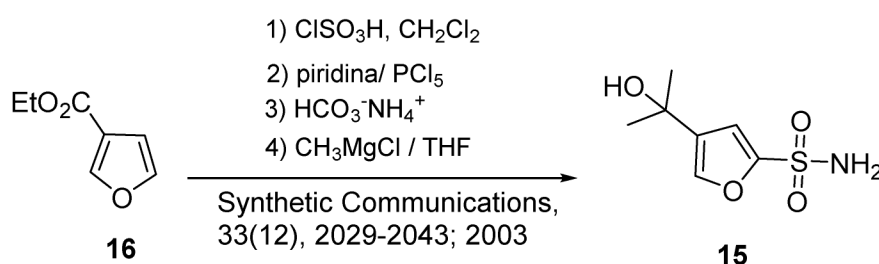
En otra realización más preferida, el compuesto de la invención se selecciona de la lista que comprende:

- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(2-metilfenil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(3-metilfenil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(4-metilfenil)urea
- 1-(3,5-dimetilfenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(2-metoxifenil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(4-metoxifenil)urea
- 1-(3,5-dimetoxifenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea

- 3-(2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(-4-nitrofenil)urea
- 1-(4-cloro-2-(trifluorometil)fenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 5 • 3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-5-yl)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 3-(9*H*-fluoren-3-il)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 1-(9*H*-fluoren-9-il)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea

Los compuestos de la presente invención de fórmula (I) pueden ser obtenidos o producidos mediante una vía sintética química u obtenidos a partir de una materia natural de distinto origen. Una realización para la obtención de los compuestos de la invención de fórmula (I), o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo, comprende las siguientes etapas:

- 15 (a) Obtención de 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) se ha llevado a cabo según se muestra en el Esquema 1, de acuerdo con el método descrito en la literatura (Synth Commun 2003, 33: 2029–2043), a partir y por reacción de furan-3-carboxilato de etilo (**16**) con ácido clorosulfónico, para dar el ácido 4-(etoxicarbonil)furan-2-sulfónico que, por tratamiento con pentacloruro de fósforo en piridina, condujo a (clorosulfonil)furan-3-carboxilato de etilo, cuya reacción con bicarbonato de amonio, generó la 4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-sulfonamida, la cual por reacción con exceso de cloruro de metilmagnesio dio lugar a la sulfonamida **15** deseada.



25

Esquema 1. Síntesis de 4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-sulfonamida (**15**) (Synth Commun 2003, 33: 2029–2043).

- 30 (b) reacción de 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida con los isocianatos 1a-14a según el esquema 2.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I) pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo, Z y E), o isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales en las cadenas R1 y R2. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

Tal como aquí se utiliza, el término "derivado" incluye tanto a compuestos farmacéuticamente aceptables, es decir, derivados del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como derivados farmacéuticamente no aceptables ya que éstos pueden ser útiles en la preparación de derivados farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del derivado farmacéuticamente aceptable no es crítica, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable.

Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran los profármacos de los compuestos de fórmula (I). El término "profármaco" tal como aquí se utiliza incluye a cualquier compuesto derivado de un compuesto de fórmula (I), por ejemplo, ésteres, incluyendo ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc., carbamatos, amidas, etc., que, cuando se administra a un individuo es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, dicho compuesto de fórmula (I) en dicho individuo. En esta definición se incluyen también los profármacos conocidos como bioprecusores, sustancias que por transformación metabólica o química dentro de un organismo vivo, den lugar a compuestos definidos por la fórmula general (I). En este punto se incluye la forma amiduro inmediatamente precursora de las sulfonilureas **1b-14b**, que una vez en el organismo forman los compuestos aquí reivindicados a una velocidad dependiente del pKa propio de cada compuesto. Ventajosamente, todos los tipos de profármaco son compuestos que aumentan la biodisponibilidad, afectan al metabolismo, estabilidad o sitio de acción farmacológica del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I) en un receptor biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un receptor biológico de un individuo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos y se pretende que ambas formas están dentro del alcance de la presente invención. En este sentido, el término "solvato", tal como aquí se utiliza, incluye tanto solvatos farmacéuticamente aceptables, es decir, solvatos del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, los cuales pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación bien conocidos por los técnicos en la materia. Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus isómeros, sales, profármacos o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tenga un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, más preferiblemente superiores al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus sales, solvatos o profármacos.

A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención también incluyen compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen dicha estructura, a excepción de la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o por tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C o un nitrógeno enriquecido en ^{15}N , están dentro del alcance de esta invención.

Los compuestos descritos en la presente invención, sus sales farmacéuticamente aceptables, profármacos y/o solvatos así como las composiciones farmacéuticas que los contienen pueden ser utilizados junto con otros fármacos adicionales para proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una composición separada para su administración simultánea o no a la de la

composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un profármaco, solvato, derivado o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5 Los "vehículos farmacéuticamente aceptables" que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

10 Otra realización preferida de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica útil para el tratamiento de patologías o enfermedades humanas inflamatorias o, en general, de enfermedades susceptibles de beneficiarse de las actividades biológicas mostradas por los productos descritos en la presente invención, en adelante composición farmacéutica de la invención, que comprende un compuesto, en cantidad terapéuticamente efectiva, de fórmula (I), o mezclas de los mismos, una sal, profármaco, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un portador, 15 adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, para la administración a un paciente.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para el tratamiento de pacientes afectados por enfermedades inflamatorias u otros procesos en los que los productos de la presente invención produzcan un efecto benéfico. Este tratamiento 20 consiste en la administración a los individuos afectados por estas enfermedades de cantidades terapéuticamente efectivas de un compuesto de fórmula (I), o una composición farmacéutica que lo incluya. A título de ejemplo, enfermedades contempladas en esta invención son las patologías de inflamación crónica como la gota, la artritis reumatoide o la enfermedad de Crohn; enfermedades del sistema nervioso central tales como el 25 Alzheimer, el Parkinson, el ictus o el traumatismo craneoencefálico; alteraciones cardiovasculares, incluyendo la aterosclerosis y el infarto de miocardio; patologías metabólicas como la diabetes; o de carácter autoinmune, tales como la dermatitis por contacto y la psoriasis; o patología producida por alteración de las funciones biológicas donde está implicado el inflammasoma NLRP3.

30 En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del agente o compuesto capaz de desarrollar la acción terapéutica determinada por sus propiedades farmacológicas, calculada para producir el efecto deseado y, en general, vendrá determinada, entre otras causas, por las

características propias de los compuestos, incluyendo la edad, estado del paciente, la severidad de la alteración o trastorno, y de la ruta y frecuencia de administración.

5 En otra realización particular, dicha composición terapéutica se prepara en forma de una forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición terapéutica proporcionada por esta invención puede ser administrada por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, la administración de la composición terapéutica proporcionada por esta
10 invención, tanto en forma ionizada como neutra, según el esquema 2, se efectúa por vía oral, tópica, rectal o parenteral (incluyendo subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.). Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el "Tratado de Farmacia Galénica", C. Faulí i
15 Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid, o en otros habituales o similares de las Farmacopeas Española y de Estados Unidos.

El uso de los compuestos de la presente invención es compatible con su uso en protocolos en que los compuestos de la fórmula (I), sus profármacos, o sus mezclas se usan por sí
20 mismos o en combinaciones con otros tratamientos o cualquier procedimiento médico.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los
25 siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

EJEMPLOS

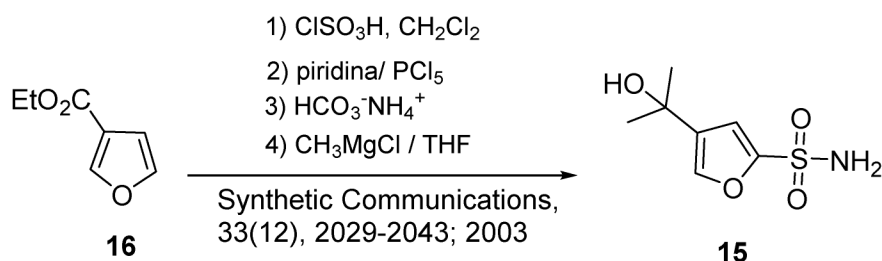
30 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que desarrollan el proceso de selección de los compuestos de la invención.

1. OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

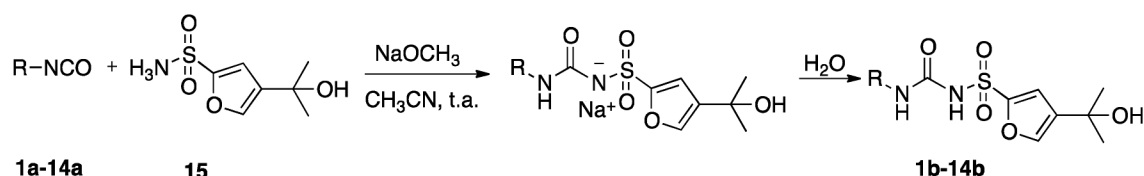
La síntesis de 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (15) se ha llevado a cabo
35 según se muestra en el Esquema 1, de acuerdo con el método descrito en la literatura

(Synth Commun 2003, 33: 2029–2043), a partir y por reacción de furan-3-carboxilato de etilo (16) con ácido clorosulfónico, para dar el ácido 4-(etoxicarbonil)furan-2-sulfónico, que por tratamiento con pentacloruro de fósforo, en presencia de piridina, condujo a (clorosulfonil)furan-3-carboxilato de etilo, cuya reacción con bicarbonato de amonio, en una mezcla acetona-agua, generó la 4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-sulfonamida que, a su vez, y por reacción con exceso de cloruro de metilmagnesio, en THF, dio lugar a la sulfonamida 15 deseada.

A continuación, la reacción de 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (15) con los isocianatos 1a-14a, promovida por metóxido sódico en acetonitrilo, a temperatura ambiente, condujo a las sulfonamidas 1b-14b (Esquema 2), aisladas como amiduros de sodio, con buenos rendimientos (Tabla 1).



Esquema 1. Síntesis de 4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-sulfonamida (15) (Synth Commun 2003, 33: 2029–2043).

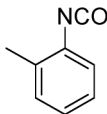
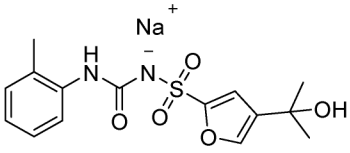
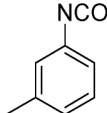
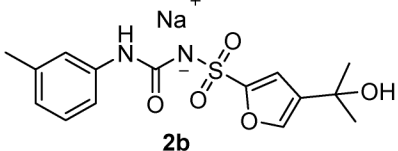
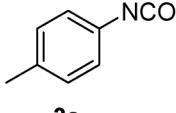
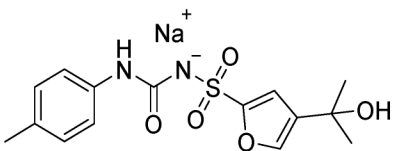
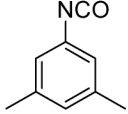
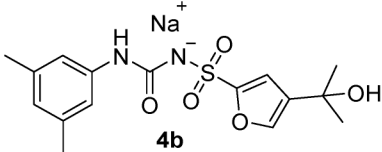
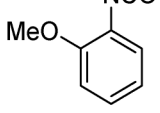
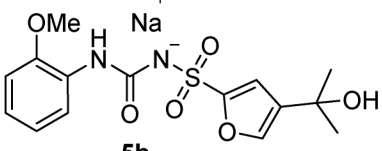
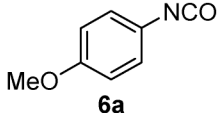
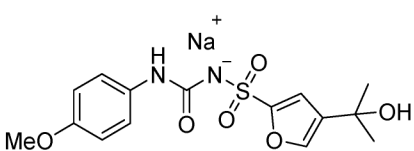
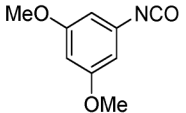
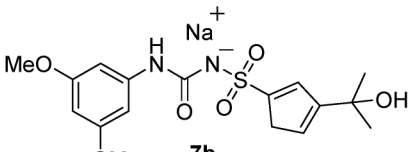


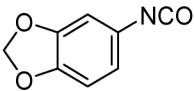
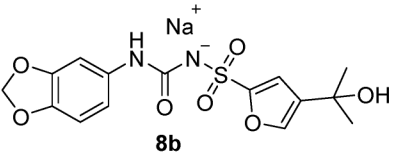
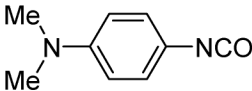
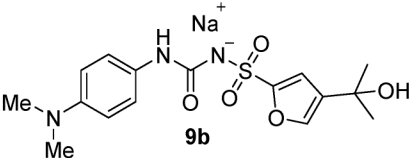

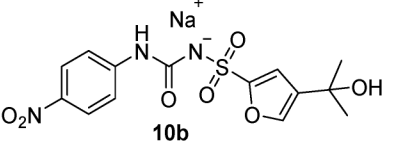
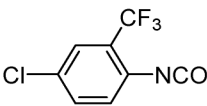
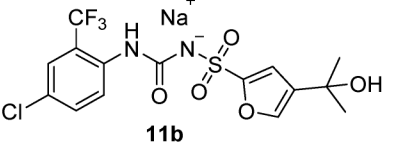
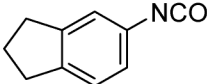
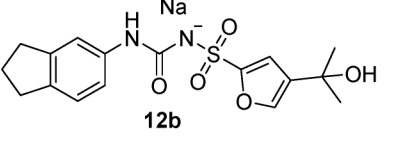
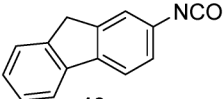
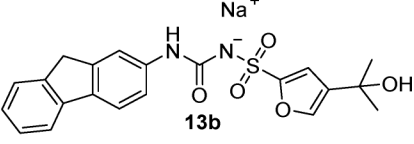
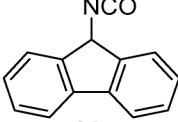
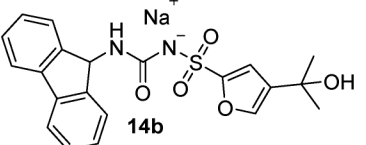
Esquema 2. Síntesis de las *N*-sulfonilureas 1b-14b

20

Tabla 1. Intermedios amiduros de las *N*-Sulfonilureas 1b-14b preparadas en esta Memoria, isocianatos precursores, tiempos de reacción y rendimientos.

Isocianato	<i>N</i> -Sulfonilureas	Tiempo de reacción	Rendimiento (%)

 <p>1a</p>	 <p>1b</p>	1,5 h	73,6
 <p>2a</p>	 <p>2b</p>	1 h	81,8
 <p>3a</p>	 <p>3b</p>	4 d	53,4
 <p>4a</p>	 <p>4b</p>	21 h	63,7
 <p>5a</p>	 <p>5b</p>	19 h	92
 <p>6a</p>	 <p>6b</p>	24 h	91
 <p>7a</p>	 <p>7b</p>	21 h	89,4

 <p>8a</p>	 <p>8b</p>	22 h	57,8
 <p>9a</p>	 <p>9b</p>	19 h	61,6
 <p>10a</p>	 <p>10b</p>	4 d	74,2
 <p>11a</p>	 <p>11b</p>	24 h	51,7
 <p>12a</p>	 <p>12b</p>	20 h	65,3
 <p>13a</p>	 <p>13b</p>	24 h	93,8
 <p>14a</p>	 <p>14b</p>	4 d	85,3

Finalmente, los amiduros aniónicos objeto de la invención, aislados y caracterizados, son sometidos a condiciones de neutralización en medios acuosos habituales, fisiológicos, tampones a pH neutros, o agua para dar lugar a los compuestos reivindicados, objeto de estudio farmacológico y uso para el tratamiento de enfermedades.

5

Materiales y métodos. El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por cromatografía en capa fina (CCF), empleando placas de gel de sílice Merck tipo 60 F₂₅₄ de 0.2 mm de espesor. La detección se realizó con una lámpara de luz ultravioleta ($\lambda = 254$ nm). Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C se registraron en un equipo Varian System 500, Varian Mercury-400, o en Varian Inova-300. Los desplazamientos químicos se expresan en la escala δ (ppm) y en el caso de los espectros de RMN de ¹H, la multiplicidad de las señales viene indicada como s (singlete), d (doblete), t (triplete), dd (doblete de dobletes), td (triplete de dobletes), y m (multiplete). En la figura 7 se muestra la numeración de carbonos a efectos de su asignación para los compuestos **1b-7b**, y **9-11b**. Los espectros de masas de alta resolución (EMAR) se obtuvieron en un equipo Agilent 6250 Accurate Mass Q-TOF LC/MS mediante la técnica API-ES en modo positivo (espectrómetro Hewlett-Packard HP-5873 MSD). Los espectros de infrarrojo se han registrado en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum One. Los puntos de fusión se han determinado en un microscopio Reichert con base termorreguladora, y no están corregidos. La purificación se realizó en un sistema de purificación flash Biotage® Isolera One.

Procedimiento general para la síntesis de las N-sulfonilureas 1b-14b. 4-(1-Hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248-255) (1 equiv), disuelto en CH₃CN (20 mM) se añadió, gota a gota, a una suspensión de MeONa (1.1 equiv) en CH₃CN, en baño de hielo, bajo argón, y agitación. Después de agitar 30 min, a temperatura ambiente (ta), se volvió a enfriar en baño de agua-hielo, y tras 10 min, se añadió el isocianato correspondiente, previamente disuelto en CH₃CN (30 mM) en caso de ser sólido, agitando la mezcla a continuación, a ta, durante el tiempo indicado en cada caso. El producto se aisló por filtración a vacío, a través de una placa filtrante nº 3, lavando con DCM frío, o tras eliminar el disolvente en vacío, en el rotavapor, por cromatografía en columna, utilizando mezclas de DCM/CH₃OH. La reconstitución en solución acuosa aporta la correspondiente N-sulfonilurea.

3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(2-metilfenil)urea (1b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med

35

2015, 21: 248–255) (53.3 mg, 0.26 mmol), disuelto en CH₃CN (13 mL), se trató con NaOCH₃ (15.7 mg, 0.29 mmol), y con *o*-tolil isocianato (**1a**) (0.04 mL, 0.32 mmol), durante 1 h, a ta, y a reflujo durante 30 min. Tras filtración, se obtuvo el amiduro sódico del compuesto **1b** (70 mg, 73.6%) como un sólido: pf 150-2 °C; IR (KBr): ν 3366, 1621, 1520, 1274, 1144, 1118 cm⁻¹; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-6'), 7.57 (s, 1H, NH), 7.38 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, H-5), 7.06 – 6.96 (m, 2H, H-3' y H-5'), 6.77 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-4'), 6.63 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, H-3), 4.92 (s, 1H, OH), 2.14 (s, 3H, CH₃), 1.35 (s, 6H, 2 CH₃); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) δ 157.9 (1C, C-2", CO), 155.9 (1C, C-2), 139.7 (1C, C-1'), 137.8 (1C, C-5), 136.1 (1C, C-4), 130.1 (1C, C-3'), 126.9 (1C, C-2'), 126.0 (1C, C-5'), 121.49(1C, C-4'), 121.0 (1C, C-6'), 109.8 (1C, C-3), 66.9 (1C, C-1"), 31.4 (2C, 2 CH₃), 18.2 (1C, CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₅H₁₇N₂O₅SNa [M]⁻: 337.08637. Encontrado: 337.08602. Por tratamiento con agua, se consigue **1b** cuantitativamente.

3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonyl)-1-(3-metilfenil)urea (2b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (52.3 mg, 0.255 mmol), disuelto en CH₃CN (12.8 mL), se trató con NaOCH₃ (15.1 mg, 0.28 mmol), y con *m*-tolil isocianato (**2a**) (0.04 mL, 0.31 mmol), durante 1 h. Tras filtración, se obtuvo el amiduro del compuesto **2b** (75.2 mg, 81.8%) como un sólido: pf 233-5 °C; IR(KBr): ν 3348, 1616, 1541, 1314, 1271, 1137 cm⁻¹; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.34 (s, 1H, NH), 7.36 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H-5), 7.29 (s, 1H, H-2'), 7.21 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-6'), 6.96 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-5'), 6.64 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H-3), 6.56 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-4'), 4.95 (s, 1H, OH), 2.17 (s, 3H, CH₃), 1.35 (s, 6H, 2 CH₃); RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 159.0 (1C, C-2", CO), 156.0 (1C, C-2), 142.5 (1C, C-1'), 137.8 (1C, C-5), 137.5 (1C, C3'), 136.2 (1C, C-4), 128.4 (1C, C-5'), 121.0 (1C, C-4'), 118.4 (1C, C-2'), 115.1 (1C, C-6'), 110.0 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1"), 31.6 (1C, 2 CH₃), 21.8 (1C, CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₅H₁₇N₂O₅SNa [M]⁻: 337.08637. Encontrado: 337.08747. Por tratamiento con agua, se consigue **2b** cuantitativamente.

3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonyl)-1-(4-metilfenil)urea (3b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (55.9 mg, 0.27 mmol), disuelto en CH₃CN (13.5 mL), se trató con NaOCH₃ (16.5 mg, 0.30 mmol), y con *p*-tolil isocianato (**3a**) (0.04 mL, 0.32 mmol), durante 4 d. Tras cromatografía en columna, utilizando DCM/CH₃OH en gradiente (6%-10%), se obtuvo el amiduro del compuesto **3b** (51 mg; 53.4%) como un sólido: pf 190-2 °C; IR (KBr): ν 3396, 1620, 1569, 1321, 1282, 1143 cm⁻¹; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.37 (s,

1H, NH), 7.37 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-5), 7.33 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H-2' y H-6'), 6.90 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-3' y H-5'), 6.65 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-3), 4.94 (s, 1H, OH), 2.16 (s, 3H, CH₃), 1.35 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 159.0 (1C, C-2'', CO), 156.0 (1C, C-2), 140.0 (1C, C-1'), 137.8 (1C, C-5), 136.2 (1C, C-4), 129.0 (2C, C-3' y C-5'), 128.8 (1C, C4'), 118.0 (2C, C-2' y C-6'), 110.0 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1''), 31.6 (2C, 2CH₃), 20.8 (1C, CH₃). EMAR (ESI pos): Calculado para C₁₅H₁₇N₂NaO₅SNa [M+H]⁺: 361.08286. Encontrado: 361.08356. Por tratamiento con agua, se consigue **3b** cuantitativamente.

1-(3,5-dimetilfenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea (4b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (56.7 mg, 0.277 mmol), disuelto en CH₃CN (13.8 mL), se trató con NaOCH₃ (17.8 mg, 0.33 mmol), y con 3,5-dimetilfenil isocianato (**4a**) (0.045 mL, 0.32 mmol), durante 20 h a ta, y 1 h a reflujo. Tras cromatografía en columna, utilizando DCM/CH₃OH en gradiente (5-10%), se aisló el amiduro del compuesto **4b** (62.9 mg, 63.7%) como un sólido: pf 198-200 °C; IR (KBr): ν 3370, 2925, 1612, 1292, 1251, 1141 cm⁻¹; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.33 (s, 1H, NH), 7.37 (s, 1H, H-5), 7.07 (s, 2H, H-2' y H-6'), 6.63 (s, 1H, H-3), 6.39 (s, 1H, H-4'), 4.92 (s, 1H, OH), 2.12 (s, 6H, 2CH_{3b}), 1.34 (s, 6H, 2CH_{3a}); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO) δ 158.7 (CO, C-2''), 155.9 (C, C-2), 142.2 (C, C-1'), 137.8 (C, C-5), 137.2 (2C, C-3' y C-5'), 136.1 (C, C-4), 122.1 (C-4'), 115.8 (2C, C-2' y C-6'), 110.1 (C, C-3), 66.94 (C, C-1''), 31.5 (2C, 2CH_{3a}), 21.7 (2C, 2CH_{3b}). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₆H₁₉N₂O₅SNa [M]⁻: 351.10202. Encontrado: 351.10103. Por tratamiento con agua, se consigue **4b** cuantitativamente.

3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(2-metoxifenil)urea (5b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (57.8 mg, 0.28 mmol), disuelto en CH₃CN (14 mL), se trató con NaOCH₃ (16.7 mg, 0.31 mmol), y con 2-metoxifenil isocianato (**5a**) (0.045 mL, 0.34 mmol), durante 19 h. Tras filtración, se obtuvo el amiduro del compuesto **5b** (97,2 mg, 92%) como un sólido: pf 225-7 °C; IR (KBr): ν 3405, 1594, 1510, 1245, 1239, 1220 cm⁻¹; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06 – 8.04 (m, 1H, H-6'), 7.37 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-5), 7.33 (s, 1H, NH), 6.89 – 6.86 (m, 1H, H-3'), 6.79 – 6.73 (m, 2H, H-4' y H-5'), 6.63 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-3), 4.92 (s, 1H, OH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 1.34 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO) δ 157.8 (1C, C-2'', CO), 155.7 (1C, C-2), 147.3 (1C, C-2'), 138.0 (1C, C-5), 136.1 (1C, C-4), 130.8 (1C, C-1'), 120.8 (1C, C-5'), 120.6 (1C, C-4'), 117.8 (1C, C-6'), 110.6 (1C, C-3'), 110.1 (1C, C-3), 66.9 (1C, C-1''), 56.1 (1C, OCH₃), 31.5 (2C, 2CH₃). EMAR (ESI

neg): Calculado para $C_{15}H_{17}N_2O_6SNa$ $[M]^-$: 353.08128. Encontrado: 353.08214. Por tratamiento con agua, se consigue **5b** cuantitativamente.

3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(4-metoxifenil)urea (6b). Siguiendo el

5 **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (63.2 mg, 0.31 mmol), disuelto en CH_3CN (15.4 mL), se trató con $NaOCH_3$ (18.4 mg, 0.34 mmol), y con 4-metoxifenil isocianato (**6a**) (0.05 mL, 0.34 mmol), durante 24 h. Tras cromatografía en columna, utilizando DCM/ CH_3OH en gradiente (5-10%), se aisló el amiduro del compuesto **6b** (105,5 mg, 91%) como un sólido: pf 235-7 °C;

10 IR (KBr): ν 3337, 1610, 1536, 1513, 1296, 1274, 1248, 1239 cm^{-1} ; RMN de 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.35 (s, 1H, NH), 7.38 (s, 1H, H-5), 7.36 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H-2' y H-6'), 6.71 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H-3' y H-5'), 6.67 (s, 1H, H-3), 4.95 (s, 1H, OH), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 1.37 (s, 6H, $2CH_3$); RMN de ^{13}C (101 MHz, $DMSO$) δ 159.1 (1C, C-2'', CO), 156.1 (1C, C-2), 153.5 (1C, C-4'), 137.8 (1C, C-5), 136.2 (1C, C-4), 135.9 (1C, C-1'), 119.2 (2C, C-2' y

15 C-6'), 113.9 (2C, C-3' y C-5'), 109.9 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1'''), 55.5 (1C, OCH_3), 31.6 (2C, 2 CH_3). EMAR (ESI neg): Calculado para $C_{15}H_{17}N_2O_6SNa$ $[M]^-$: 353.08128. Encontrado: 353.08212. Por tratamiento con agua, se consigue **6b** cuantitativamente.

1-(3,5-dimetoxifenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea (7b).

20 Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (63.6 mg, 0.31 mmol), disuelto en CH_3CN (15.5 mL), se trató con $NaOCH_3$ (18.4 mg, 0.34 mmol), y con 3,5-dimetoxifenil isocianato (**7a**) (84 mg, 0.47 mmol) disuelto en CH_3CN (15.6 mL), durante 21 h. Tras cromatografía en columna, utilizando DCM/ CH_3OH en gradiente (5-10%), se aisló el amiduro del compuesto **7b** (112,5

25 mg, 89.4%) como sólido: pf 123-5 °C; IR (KBr): ν 3359, 1667, 1607, 1290, 1153, 1132 cm^{-1} ; RMN de 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.45 (s, 1H, NH), 7.40 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-5), 6.76 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H, H-2' y H-6'), 6.66 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-3), 5.95 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-4'), 4.96 (s, 1H, OH), 3.64 (s, 6H, 2 OCH_3), 1.37 (s, 6H, $2CH_3$); RMN de ^{13}C (101 MHz, $DMSO$) δ 160.7 (2C, C-3' y C-5'), 158.7 (1C, C-2'', CO), 155.8 (1C, C-2), 144.2 (1C, C-1'), 137.9

30 (1C, C-5), 136.2 (1C, C-4), 110.1 (1C, C-3), 96.4 (2C, C-2' y C-6'), 92.7 (1C, C-4'), 67.0 (1C, C-1'''), 55.3 (2C, 2 OCH_3), 31.5 (2C, $2CH_3$). EMAR (ESI neg): Calculado para $C_{16}H_{19}N_2O_7SNa$ $[M]^-$: 383.09185. Encontrado: 383.09316. Por tratamiento con agua, se consigue **7b** cuantitativamente.

3-(2H-1,3-benzodioxol-5-il)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea (8b).

Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255)(103 mg, 0.5 mmol), disuelto en CH₃CN (25 mL), se trató con NaOCH₃ (30 mg, 0.56 mmol), y con 5-isocianatobenzo[d]1,3-dioxol (**8a**) (90 mg, 0.55 mmol) disuelto en CH₃CN (18.4 mL), durante 22 h. Tras filtración, se obtuvo el amiduro del compuesto **8b** (113 mg, 57.8%) como un sólido: pf 230 °C (dec.); IR(KBr): ν 3334, 1603, 1547, 1503, 1346, 1248, 1130 cm⁻¹; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.41 (s, 1H, NH), 7.36 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H-5), 7.28 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-4'), 6.76 (dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, 1H, H-6'), 6.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-7'), 6.64 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H-3), 5.85 (s, 2H, CH₂, H-2'), 4.90 (s, 1H, OH), 1.34 (s, 6H, CH₃); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO) δ 159.0 (1C, C-2'', CO), 156.0 (1C, C-2), 147.2 (1C, C-3a'), 140.8 (1C, C-7a'), 137.8 (1C, C-5), 137.3 (1C, C-5'), 136.2 (1C, C-4), 110.0 (1C, C-6'), 109.9 (1C, C-3), 108.1 (1C, C-7'), 100.7 (2C, C-2', CH₂), 100.4 (1C, C-4'), 66.9 (1C, C-1''), 31.5 (2C, 2CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₅H₁₅N₂O₇SNa [M]⁻: 367.06055. Encontrado: 367.06132. Por tratamiento con agua, se consigue **8b** cuantitativamente.

1-(4-dimetilaminofenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea (9b).

Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (103 mg, 0.5 mmol), disuelto en CH₃CN (25 mL), se trató con NaOCH₃ (30 mg, 0.56 mmol), y con 4-dimetilaminofenil isocianato (**9a**) (0.08 mL, 0.56 mmol), durante 19 h. Tras filtración, se obtuvo el amiduro del compuesto **9b** (120 mg, 61.6%) como un sólido: pf 165 °C (dec.); IR (KBr): ν 3380, 1599, 1521, 1250, 1143, 640 cm⁻¹; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.16 (s, 1H, NH), 7.38 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, H-5), 7.29 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-3' y H-5'), 6.66 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, H-3), 6.58 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-2' y H-6'), 4.94 (s, 1H, OH), 2.76 (s, 6H, N-2CH₃), 1.37 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 159.1 (1C, C-2'', CO), 156.2 (1C, C-2), 145.6 (1C, C-4'), 137.7 (1C, C-5), 136.2 (1C, C-4), 133.1 (1C, C-1'), 119.4 (2C, C-2' y C-6'), 113.7 (2C, C-3' y C-5') 109.9 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1''), 41.5 (2C- N-2CH₃), 31.6 (2C, 2CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₆H₂₀N₃O₅SNa [M]⁻: 366.11292. Encontrado: 366.11308. Por tratamiento con agua, se consigue **1b** cuantitativamente.

3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(4-nitrofenil)urea (10b).

Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (59 mg, 0.29 mmol), disuelto en CH₃CN (14.4 mL), se trató con NaOCH₃ (17.9 mg, 0.33 mmol), y con 4-nitrofenil isocianato (**10a**) (57.2 mg, 0.35 mmol)

disuelto en CH₃CN (11.6 mL), durante 22 h, a reflujo por 3,5 h, y durante 3 d, a ta. Tras cromatografía en columna, utilizando DCM/CH₃OH en gradiente (6-10%), se aisló el amiduro del compuesto **10b** (83.3 mg, 74.2%) como un sólido amarillo: pf 203-5 °C; IR (KBr): ν 3352, 2926, 1625, 1505, 1302, 1243, 1142, 1110 cm⁻¹; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.33 (s, 1H, NH), 8.01 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H, H3' y H-5'), 7.65 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H, H-2' y H-6'), 7.38 (d, *J* = 1.1 Hz, H-5), 6.65 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H-3), 4.92 (s, 1H, OH), 1.35 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO) δ 158.0 (1C, C-2", CO), 155.5 (1C, C-2), 149.8 (1C, C-1'), 139.6 (1C, C-4'), 138.0 (1C, C-5), 136.2 (1C, C-4), 125.3 (2C, C-2' y C-6'), 116.7 (2C, C-3' y C-5'), 110.5 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1"), 31.5 (2C, 2CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₄H₁₄N₃O₇SNa [M]⁻: 368.05579. Encontrado: 368.05531. Por tratamiento con agua, se consigue **10b** cuantitativamente.

1-(4-cloro-2-(trifluorometil)fenil-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea

(11b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (103 mg, 0.5 mmol), disuelto en CH₃CN (25 mL), se trató con NaOCH₃ (30 mg, 0.56 mmol), y con 4-cloro-2-(trifluorometil)fenil isocianato (**11a**) (122 mg, 0.55 mmol) disuelto en CH₃CN (18.4 mL), durante 24. Tras filtración, se obtuvo el amiduro del compuesto **11b** (116 mg, 51.7%) como un sólido: pf 226-8 °C; IR(KBr): ν 3340, 1590, 1369, 1276, 1133 cm⁻¹; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.25 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H-6'), 7.56 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-3'), 7.55 (d, *J* = 8.6 Hz, 2.6 Hz, 1H, H-5'), 7.51 (s, 1H, NH), 7.40 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H-5), 6.64 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H-3), 4.92 (s, 1H, OH), 1.34 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO) δ 156.7 (1C, CO), 155.2 (1C, C-2), 138.4 (c, *J* = 1.4 Hz, 1C, C-1'), 138.3 (1C, C-5), 136.2 (1C, C-4), 133.0 (1C, C-5'), 125.7 (c, *J* = 5.6 Hz, 1C, C-3'), 125.0 (1C, C-4'), 124.2 (1C, C-6'), 123.9 (c, *J* = 273.2 Hz, 1C, CF₃), 118.0 (c, *J* = 29.6 Hz 1C, C-2'), 110.4 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1"), 31.5 (2CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₅H₁₃ClF₃N₂O₅Na [M]⁻: 425.01913. Encontrado: 425.01819. Por tratamiento con agua, se consigue **11b** cuantitativamente.

3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-5-yl)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea (**12b**).

Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (62 mg, 0.3 mmol), disuelto en CH₃CN (15 mL), se trató con NaOCH₃ (19.1 mg, 0.35 mmol), y con 5-indanil isocianato (**12a**) (0.065 mL, 0.45 mmol), durante 20 h. Tras cromatografía en columna flash, utilizando DCM/CH₃OH en gradiente (6-8%), se aisló el amiduro del compuesto **12b** (76.2 mg, 65.3%) como un sólido: pf 195-7 °C; IR (KBr): ν 3380, 1597, 1537, 1281, 1164, 1135 cm⁻¹; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-

d_6) δ 8.41 (s, 1H, NH), 7.41 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-5), 7.38 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-4'), 7.19 (dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, 1H, H-6'), 6.95 (dd, $J = 8.1, 1.1$ Hz, 1H, H-7'), 6.67 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-3), 4.95 (s, 1H, OH), 2.73 (td, $J = 7.5, 4.6$ Hz, 4H, 2H-1' y 2H-3'), 1.95 (p, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-2'), 1.37 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) δ 158.5 (1C, C-2", CO), 155.6 (1C, C-2), 143.7 (1C, C-3a'), 140.5 (1C, C-5'), 137.8 (1C, C-5), 136.1 (1C, C-4), 135.2 (1C, C-7a'), 123.9 (1C, 7'), 116.1 (1C, C6'), 114.0 (1C, C-4'), 110.1 (1C, C-3), 66.9 (1C, C-1"), 32.9 (1C, C-3', CH₂), 32.0 (1C, C-1', CH₂), 31.4 (2C, 2CH₃), 25.5 (1C, C-2', CH₂). EMAR (ESI neg): Calculado para C₁₇H₁₉N₂O₅SNa [M]⁻: 363.10202. Encontrado: 363.10159. Por tratamiento con agua, se consigue **12b** cuantitativamente.

10

3-(9H-fluoren-3-il)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea (13b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (55.4 mg, 0.27 mmol), disuelto en CH₃CN (13.5 mL), se trató con NaOCH₃ (16.8 mg, 0.31 mmol), y con 9H-fluoren-2-il isocianato (**13a**) (65.8 mg, 0.32 mmol) disuelto en CH₃CN (10.6 mL), durante 24 h. Tras cromatografía en columna flash, utilizando DCM/CH₃OH en gradiente (5-8%), se aisló el amiduro del compuesto **13b** (107,6 mg, 93.8%) como un sólido: pf 223-5 °C; IR (KBr): ν 3370, 1599, 1538, 1314, 1249, 1135 cm⁻¹; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.62 (s, 1H, NH), 7.76 (m, 1H, H-1'), 7.68 (dt, $J = 7.6, 0.9$ Hz, 1H, H-5'), 7.59 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-4'), 7.46 (dt, $J = 7.4, 1.0$ Hz, 1H, H-8'), 7.43 (dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, 1H, H-3'), 7.38 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-5), 7.27 (td, $J = 7.6, 1.1$ Hz, 1H, H-6'), 7.15 (td, $J = 7.4, 1.1$ Hz, 1H, H-7'), 6.65 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-3), 4.91 (s, 1H, OH), 3.77 (s, 2H, H-9', CH₂), 1.35 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO) δ 158.7 (1C-C-2", CO), 156.1 (1C, C-2), 143.8 (1C, C-9a'), 142.7 (1C, C-8a'), 142.2 (1C, C-4b'), 142.1 (1C, C-4a'), 137.7 (1C, C-5), 136.1 (1C, C-4), 133.6 (1C, C-2'), 127.0 (1C, C-6'), 125.6 (1C, C-7'), 125.3 (1C, C-8'), 120.1 (1C, C-4'), 119.2 (1C, C-5'), 116.6 (1C, C-3'), 114.4 (1C, C-1'), 110.0 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1"), 36.9 (1C, C-9', CH₂), 31.6 (2C, 2CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₂₁H₁₉N₂O₅SNa [M]⁻: 411.10202. Encontrado: 411.10136. Por tratamiento con agua, se consigue **13b** cuantitativamente.

30

1-(9H-fluoren-9-il)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea (14b). Siguiendo el **Procedimiento General**, 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida (**15**) (Nat Med 2015, 21: 248–255) (57.4 mg, 0.28 mmol), disuelto en CH₃CN (14 mL), se trató con NaOCH₃ (17.8 mg, 0.33 mmol), y con 9H-fluoren-9-il isocianato (**14a**) (66 mg, 0.32 mmol) disuelto en CH₃CN (10.6 mL), durante 4 d. Tras cromatografía en columna flash, utilizando DCM/CH₃OH en gradiente (5-10%), se aisló el amiduro del compuesto **14b** (97.8 mg,

35

85.3%) como un sólido: pf 210-2 °C; IR (KBr): ν 3393, 1582, 1512, 1333, 1259, 1172, 1120, 645 cm^{-1} ; RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.77 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-4' y H-5'), 7.49 (s, 1H, H-5), 7.44 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-1' y H-8'), 7.35 (td, $J = 7.4, 1.1$ Hz, 2H, H-3' y H-6'), 7.26 (td, $J = 7.4, 1.1$ Hz, 2H, H-2' y H-7'), 6.73 (s, 1H, H-3), 6.61 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, NH), 5.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-9'), 5.01 (s, 1H, OH), 1.39 (s, 6H, 2CH₃); RMN de ^{13}C (126 MHz, DMSO) δ 146.4 (2C, C-8a' y C-9a'), 140.1 (2C, C-4a' y C-4b'), 138.7 (1C, C-5), 136.4 (1C, C-4), 128.4 (2C, C-3' y C-6'), 127.8 (2C, C-2' y C-7'), 125.2 (2C, C-1' y C-8'), 120.4 (2C, C-4' y C-5'), 110.7 (1C, C-3), 67.0 (1C, C-1"), 55.9 (1C, C-9'), 31.5 (2C, 2CH₃). EMAR (ESI neg): Calculado para C₂₁H₁₉N₂O₅SNa [M]⁻: 411.10202. Encontrado: 411.10253. Por tratamiento con agua, se consigue **14b** cuantitativamente.

2. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS ESTUDIADAS EN LOS COMPUESTOS DE LA INVENCIÓN

2.1 Propiedades de reducción de la liberación de IL-1 β de los compuestos de la invención.

Se evaluó la capacidad de los compuestos desarrollados para reducir la liberación de IL-1 β utilizando un modelo *in vitro* de activación del inflammasoma en macrófagos derivados de médula ósea (BMDMs) de ratón. Los macrófagos fueron tratados con lipopolisacárido bacteriano (LPS) y Adenosina tri-fosfato (ATP), en presencia de los diferentes compuestos, y la liberación de IL-1 β al medio por parte de los macrófagos fue determinada por ELISA.

El procedimiento utilizado para evaluar los compuestos, siguiendo un método previamente descrito (Nature Medicine, 2015, 21(3): 248–255), fue el siguiente: los macrófagos derivados de médula ósea de ratón fueron sembrados y mantenidos en medio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado con 10% de suero bovino fetal, 25% de sobrenadante de células L929, 50 unidades por mililitro de penicilina y 50 microgramos por mililitro de estreptomina, a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂. Para los ensayos, los macrófagos fueron subcultivados en placas de 12 pocillos a una densidad de 6x10⁵ células por pocillo. Para estudiar el efecto de los compuestos sobre la inhibición del inflammasoma, los macrófagos fueron previamente primados con lipopolisacárido (LPS, *E. coli* serotipo 026:B6, Sigma-Aldrich USA) 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en DMEM + 10% SBF durante 4 horas. Pasado este tiempo, se retiró el DMEM con LPS y se sustituyó por DMEM sin suero que contenía los diferentes compuestos a la concentración de 3 μM , se esperó 15 minutos, y trataron las células con ATP 5 mM (Sigma-Aldrich) durante 30 minutos. Se retiró el

sobrenadante de las células estimuladas y se congeló a -20°C para su posterior determinación. La medida de IL-1 β en el sobrenadante se llevó a cabo mediante la técnica de enzimoimmunoanálisis (ELISA) siguiendo las recomendaciones del proveedor (R&D).

5 En todos los ensayos se contó con un control negativo que consistió en macrófagos sin tratamiento, así como con un control positivo, macrófagos tratados con LPS+ATP sin ningún compuesto inhibidor. Además, se incluyó en los ensayos la molécula MCC950 (Sigma-Aldrich) como control de inhibición de la liberación de IL-1 β .

10 Los resultados obtenidos se muestran en la **tabla 1**, en la que se indica el porcentaje de reducción de la liberación de IL-1 β para cada uno de los compuestos con relación a la IL-1 β en el sobrenadante de macrófagos estimulados únicamente con LPS(1 $\mu\text{g/ml}$) +ATP(5mM). Estos resultados indican que, de los 14 compuestos estudiados, 7 son capaces de reducir la liberación de IL-1 β inducida por LPS+ATP en los BMDMs (3b, 4b, 7b, 8b, 11b, 13b, 14b). De estos 7, se observan diferencias estadísticamente significativas respecto al control LPS+ATP para los compuestos 4b y 7b, y para el MCC950 utilizado
15 como control de la inhibición en todos los ensayos. El compuesto 7b reduce la liberación de IL-1 β en un $67.20\% \pm 41.09$, mientras que el 4b lo hace en un $92.09\% \pm 6.435$, llegando prácticamente a la capacidad de inhibición del MCC950 ($96.89\% \pm 11.10$). Es por ello por lo que se profundizó en el estudio del compuesto 4b como potencial inhibidor del inflammasoma NLRP3.

Tabla 1. Porcentaje de reducción de la liberación de IL-1 β de los compuestos derivados de MCC950 a la concentración de 3 μ M. Análisis estadístico mediante ANOVA de una vía: *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.

	Compuesto (3 μ M)	%Reducción IL-1 β \pm SEM
	MCC950	96.89% \pm 11.10 (***)
5	1b	n.r.
	2b	n.r.
	3b	50.51% \pm 75.36
	4b	92.09% \pm 6.35 (**)
	5b	n.r.
10	6b	n.r.
	7b	67.20% \pm 41.09 (*)
	8b	2.82% \pm 19.34
	9b	n.r.
15	10b	n.r.
	11b	39.81% \pm 33.50
	12b	n.r.
	13b	5.75% \pm 65.72
20	14b	14.67% \pm 103.80

2.2 Propiedades de inhibición del inflamasoma NLRP3 del compuesto 4b.

Tras el cribado farmacológico de los derivados de MCC950, se seleccionó el compuesto 4b como compuesto líder de la familia de derivados al mostrar la mayor capacidad de reducción de la liberación de IL-1 β .

A continuación, se estudió para el compuesto 4b la capacidad de inhibición del inflamasoma NLRP3, responsable del procesamiento y liberación de la citoquina IL-1 β (Nat Rev Immunology, 2019, 8:477-489), en BMDMs previamente primados con LPS y estimulados con ATP o cristales de ácido úrico (MSU).

El método para evaluar la inhibición del inflamasoma NLRP3 fue el siguiente: los BMDMs fueron subcultivados en placas de 6 pocillos a la densidad celular de 1.2×10^6 células por

pocillo, y, tras ser primados con LPS (*E. coli* serotipo 026:B6, Sigma-Aldrich USA) 1 µg/ml en DMEM + 10% SBF durante 4 horas, se retiró este medio y se añadió DMEM sin suero en presencia o ausencia del compuesto 4b a 1 µM durante 15 minutos. A continuación, los macrófagos se trataron con ATP 5mM (Sigma-Aldrich) durante 15 minutos (Fig. 1A) o MSU 200 µg/ml (invivogen) durante 16 horas (Fig. 1D). Pasado este tiempo se recogió el sobrenadante de las células tratadas y se congeló a -20°C, y se lisaron las células de la placa en laemli buffer (Tris HCl pH 6.8 2M, SDS, β-mercaptoetanol, glicerol, bromofenol). Parte del sobrenadante se utilizó para la determinación de IL-1β por ELISA (R&D), y el resto se utilizó para la precipitación con ácido tricloracético para la detección por Western Blot de los fragmentos de IL-1β y de caspasa-1 escindidos, signos de activación del inflammasoma NLRP3.

El procedimiento de precipitación de proteínas presentes en el sobrenadante de macrófagos estimulados fue el siguiente: los sobrenadantes fueron centrifugados a 1000 rpm durante 5 minutos a 4°C, para eliminar cualquier resto celular que pudiera estar presente. Al sobrenadante obtenido de la centrifugación se le añadió ácido tricloracético al 100% (500g de ácido tricloracético disueltos en 350 ml de H₂O_{dd}) en relación 1:2 respecto al volumen de sobrenadante del que partimos. Se dejó incubar la mezcla a 4°C durante dos horas y se centrifugó 14 mil rpm durante 15 min a 4°C. El pellet obtenido se lavó con 200 µl de acetona fría y se volvió a centrifugar a 14 mil rpm durante 5 min a 4°C. Se repitió dos veces el paso de lavado con acetona. Finalmente, el pellet resultante se secó a 95°C durante 5 minutos en un termobloque para evaporar la acetona restante, y se resuspendió en 30 µl de laemli buffer 1x.

Las proteínas del sobrenadante, así como las del lisado celular de los macrófagos tratados se separaron mediante electroforesis en geles de acrilamida al 10% (proteínas del lisado) o al 15% (proteínas del sobrenadante). Las proteínas separadas en el gel se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa, las cuales se bloquearon con TBS-T (*Tris-Buffer Saline* y *Tween-20*) 4% de albúmina de suero bovino fetal (BSA) (Sigma) durante al menos una hora para evitar uniones inespecíficas del anticuerpo. A continuación, las membranas se hibridaron durante toda la noche con anticuerpos primarios anti-IL1β (1:1000; Abcam) y anti-caspasa 1 (1:1000 Santa Cruz Biotechnology). Posteriormente, se hicieron tres lavados con TBS-T 1X y se hibridaron durante una hora con los correspondientes anticuerpos secundarios, anti-goat/rabbit (1:10000; Santa Cruz Biotechnology) y con anti-actinaβ (1:50000; Sigma, USA). Éstas, tras dos lavados con TBS-T 1X y un último lavado con TBS 1X (*Tris-Buffer Saline*; Tris HCl 0.4 M, Tris Base 0.097 M, NaCl 1.5 M) fueron

reveladas por quimioluminiscencia con el reactivo de detección ECL (GE Healthcare LifeScience, Spain).

Los resultados obtenidos (**Figura 1**) indican que el compuesto 4b es capaz de reducir la liberación de IL-1 β en BMDMs inducida tanto por LPS+ATP (Fig. 1B) como por LPS+MSU (Fig. 1E) prácticamente a cero. Esta reducción en la liberación de IL-1 β se debe a la propiedad de inhibición de NLRP3 del compuesto, ya que en presencia del 4b (1 μ M) no se produce el corte de las proteínas IL-1 β ni caspasa-1 que sí tiene lugar cuando los macrófagos son tratados con LPS+ATP (Fig. 1C) o LPS+MSU (Fig. 1F) sin compuesto, evitándose así la activación completa del inflamasoma NLRP3 y por tanto la liberación de IL-1 β .

Figura 1. Efecto inhibitorio del compuesto 4b sobre el inflamasoma NLRP3. Elisa de IL-1 β en el sobrenadante de BMDMs previamente primados con LPS 1 μ g/ml durante 4 horas y tratados con 4b 1 μ M los 15 minutos previos a ser estimulados con ATP 5mM 30 minutos (B) o MSU 200 μ g/ml 16 horas (E). Western Blots representativos de pro-IL-1 β , caspasa-1 p45 y β -actina en el lisado y IL-1 β p17 y caspasa-1 p10 en el sobrenadante de BMDMs previamente primados con LPS tratados con ATP (C) o MSU (F) en presencia de 4b 1 μ M. Datos correspondientes al promedio \pm error estándar de 5 (B) y 6 (E) experimentos independientes. Análisis estadístico mediante ANOVA de una vía y test Dunnet's de comparaciones múltiples: ***p<0.001, ****p<0.0001

2.3 Propiedades anti-inflamatorias del compuesto 4b en un modelo *in vivo* de gota en ratón.

Dado el potente efecto del compuesto 4b observado sobre la reducción de IL-1 β en macrófagos estimulados tanto con LPS+ATP como LPS+MSU, se decidió estudiar el efecto de este compuesto en un modelo inflamatorio *in vivo*. Se utilizó un modelo murino de gota, debido a la relación directa del inflamasoma NLRP3 en el desarrollo y progresión de esta enfermedad (Lancet, 2016, 388(10055):2039-2052).

El modelo de gota en ratón se llevó a cabo en ratones de cepa silvestre (C57/BL6) de edad adulta (3-6 meses), a los que se les inyectaron cristales de ácido úrico de manera intraplantar, siguiendo un procedimiento previamente descrito (Arthritis Research and Therapy, 2018, 20:144). Para preparar los cristales, se disolvió 1g de ácido úrico (Sigma-Aldrich) en 190 ml de agua destilada + 6 ml de NaOH 1M llevados a ebullición, en agitación. Se ajustó el pH de la disolución con HCl hasta 7.4. La disolución se vertió sobre una placa de vidrio y se dejó secar 24 horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se filtraron

los cristales obtenidos mediante papel de filtro y se dejaron secar en el papel en una estufa a 56°C hasta que se secaron por completo. Los cristales resultantes se guardaron en seco a -20°C.

- 5 Para el modelo de gota, los ratones fueron sedados con isofluorano y se les inyectó cristales de ácido úrico en la almohadilla de la pata derecha (1 mg en 50 µl de PBS 1x estéril). En los ratones tratados con 4b, éste se disolvió en suero salino (0.9% NaCl en H₂O_{dd}) y se inoculó mediante inyección intraperitoneal a las dosis de 3mg/kg o 10 mg/kg
- 10 justo después de la inyección intraplantar de los cristales de MSU. Al resto se les inyectó vehículo (0.9% NaCl en H₂O_{dd}) de manera intraperitoneal. A las 24 horas fueron sacrificados y se midió el perímetro de la pata derecha y el de la izquierda con un calibre electrónico. El nivel de inflamación de la pata pinchada respecto a la pata control se representó mediante el índice de inflamación en la pata ($\frac{\text{Medida de la pata izquierda}}{\text{Medida de la pata derecha}} - 1$) x 100).
- Además de este parámetro inflamatorio, se estudió el efecto de los cristales de ácido úrico
- 15 sobre la alodinia mecánica de los ratones mediante el test de Von Frey (Frontiers in Molecular Neuroscience, 2017, 10:284). El test de Von Frey se utiliza para medir la alodinia mecánica. Existen diferentes métodos de realización del test, en este caso se realizó el método del “estímulo ascendente”. Este método consiste en la aplicación de monofilamentos de una fuerza creciente (0.02-15 mN) hasta llegar al umbral de retirada.
- 20 El test se realizó en dos días, antes de la inyección intraplantar de los cristales + vehículo o 4b intraperitoneal (tiempo 0) y a las 24 horas (tiempo 1). En el tiempo 0 los animales se colocaron individualmente en las cajas de Von Frey posicionadas sobre una rejilla, para poder acceder a la almohadilla de la pata. Cada uno de los filamentos se aplicó perpendicularmente sobre la almohadilla de la pata hasta doblarse, generando de esta
- 25 forma una fuerza constante. Cada filamento se aplicó un total de 5 veces, y se registró la respuesta del animal, considerándose una respuesta positiva un comportamiento asociado a dolor (retirada repentina de la pata o lameteo de la misma), y una respuesta negativa una ausencia de tal comportamiento. La fuerza ejercida por el filamento que provocó tres respuestas positivas se consideró el umbral de retirada para dicho animal. Tras el test, el
- 30 animal fue devuelto a su jaula, y 24 horas después de la inyección de los cristales se le repitió la prueba con el fin de comparar los umbrales de retirada pre- y post-inyección de MSU intraplantar + vehículo 4b intraperitoneal.
- Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 2.

Figura 2. Efecto anti-inflamatorio del compuesto 4b en un modelo in vivo de gota en ratón. Fig.2.B. Imágenes representativas de las patas de ratones tratados con MSU + vehículo (I) o con MSU+4b 3 (II) o 10 (III) mg/kg. 24 horas post inyección Fig. 2.C. Índice de inflamación en la pata, representado como [(diámetro pata izquierda/diámetro pata derecha) -1] x 100, de los animales 24 horas post-inyección de MSU, + vehículo o 4b a 3 o a 10 mg/kg. Análisis estadístico mediante ANOVA de una vía ****p<0.0001. Fig. 2. D. Umbral de retirada de la pata medido mediante el test de Von Frey de los animales 24 horas post-inyección de MSU, sin tratamiento o con tratamiento intra-peritoneal de 4b a 3 o a 10 mg/kg. Análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías de medidas repetidas y Test Tukey de comparaciones múltiples: *p<0.05; **p<0.01; ****p<0.0001.

El compuesto 4b ejerce un efecto anti-inflamatorio sobre los ratones tratados con inyección intraplantar de cristales de ácido úrico, como puede observarse en las imágenes de la figura 2B. Este efecto se traduce en una reducción de casi un 50% en el índice de inflamación de la pata con el tratamiento de 4b a 3 mg/kg, y de más de un 50% a 10 mg/kg, siendo estadísticamente significativas las diferencias en este índice para los grupos de 3 y 10 mg/kg frente al grupo vehículo (Fig. 2C).

Además, el compuesto 4b es capaz de reducir la alodinia mecánica provocada por la inyección de los cristales de ácido úrico (Fig. 2C). Mientras que en los ratones tratados con vehículo este parámetro cae en las 24 horas post-inyección hasta el 30%, este valor se recupera hasta el 52% en los animales tratados con 4b 3 mg/kg y hasta el 81% en los tratados con 4b a 10 mg/kg, siendo en ambos grupos las diferencias en este parámetro estadísticamente significativas respecto al grupo vehículo.

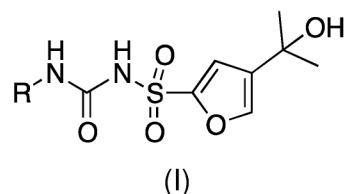
25

30

REIVINDICACIONES

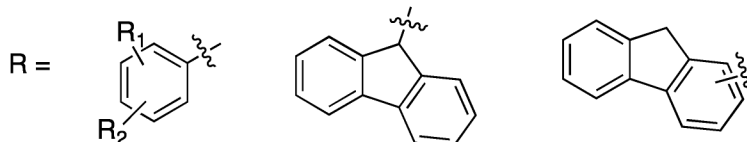
1. Compuestos de fórmula general (I):

5



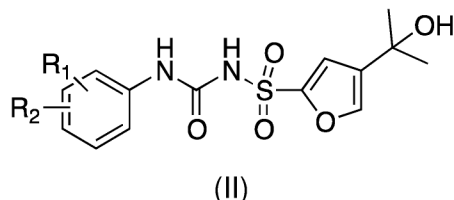
Donde R es un anillo de benceno diferentemente sustituido o un anillo de 9H-fluoreno según:

10



2. Compuestos de formula general (I) según la reivindicación 1, donde R es un anillo de benceno diferentemente sustituido por R₁ y/o R₂ según la formula general (II):

15

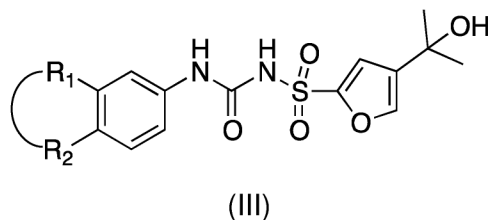


3. Compuestos de fórmula general (II) según la reivindicación 2, donde: R₁ y R₂ son iguales o distintos y se seleccionan de forma independiente de un grupo alquilo (metilo, etilo, o mayores cadenas hidrocarbonadas o fluorocarbonas, o sustituyentes bidentados, es decir, unidos doblemente al anillo de benceno), alcóxido (metóxido, etóxido, o mayores cadenas, o sustituyentes bidentados del tipo -O-alquilen-O-), amino y aminoalquil, halógenos, grupos nitro =-alquílicas,) o, en general, cualquier sustituyente situado en cualquier posición.

25

4. Compuestos según la reivindicación 3, donde R₁ y/o R₂ pueden ser hidrógeno, metilo, metóxido, dimetilamino, nitro, cloro, trifluorometilo.

5. Compuesto según la reivindicación 3, donde R1 y R2 están en posiciones adyacentos y unidos, formando un ciclo fusionado (-R₁-R₂-), según la fórmula general (III).



5

6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, seleccionado de la lista que comprende:

- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(2-metilfenil)urea
- 10 • 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(3-metilfenil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(4-metilfenil)urea
- 1-(3,5-dimetilfenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(2-metoxifenil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(4-metoxifenil)urea
- 15 • 1-(3,5-dimetoxifenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 3-(2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)-1-(4-nitrofenil)urea
- 1-(4-cloro-2-(trifluorometil)fenil)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 20 • 3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-5-yl)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 3-(9*H*-fluoren-3-il)-1-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea
- 1-(9*H*-fluoren-9-il)-3-([4-(2-hidroxiopropan-2-il)furan-2-il]sulfonil)urea

7. Procedimiento de obtención de los compuestos de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende los siguientes pasos:

- (a) Obtención de 4-(1-hidroxil-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida mediante la reacción de furan-3-carboxilato de etilo con ácido clorosulfónico, para dar el ácido 4-(etoxicarbonil)furan-2-sulfónico, que por tratamiento con pentacloruro de fósforo, en presencia de piridina, condujo a (clorosulfonil)furan-3-carboxilato de etilo, cuya reacción con bicarbonato de amonio, en una mezcla acetona-agua, generó la 4-(2-hidroxiopropan-2-

30

il)furan-2-sulfonamida que, a su vez, y por reacción con exceso de cloruro de metilmagnesio, en THF, dio lugar a 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida.

5 (b) reacción de 4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-furan-2-sulfonamida con los isocianatos 1a-14a para la obtención de los compuestos de formula (I).

8. Uso del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la elaboración de un medicamento.

10 9. Uso del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

15 10. Uso del compuesto según la reivindicación anterior, donde las enfermedades inflamatorias se seleccionan de la lista que comprende patologías de inflamación crónica como la gota, la artritis reumatoide o la enfermedad de Crohn; enfermedades del sistema nervioso central tales como el Alzheimer, el Parkinson, el ictus o el traumatismo craneoencefálico; alteraciones cardiovasculares, incluyendo la aterosclerosis y el infarto de miocardio; patologías metabólicas como la diabetes; o de carácter autoinmune, tales como la dermatitis por contacto y la psoriasis; o patología producida por alteración de las
20 funciones biológicas donde está implicado el inflamasoma NLRP3.

11. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula general (I) junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

25 12. Composición farmacéutica según la reivindicación anterior, que además comprende uno o más agentes terapéuticos activos.

30

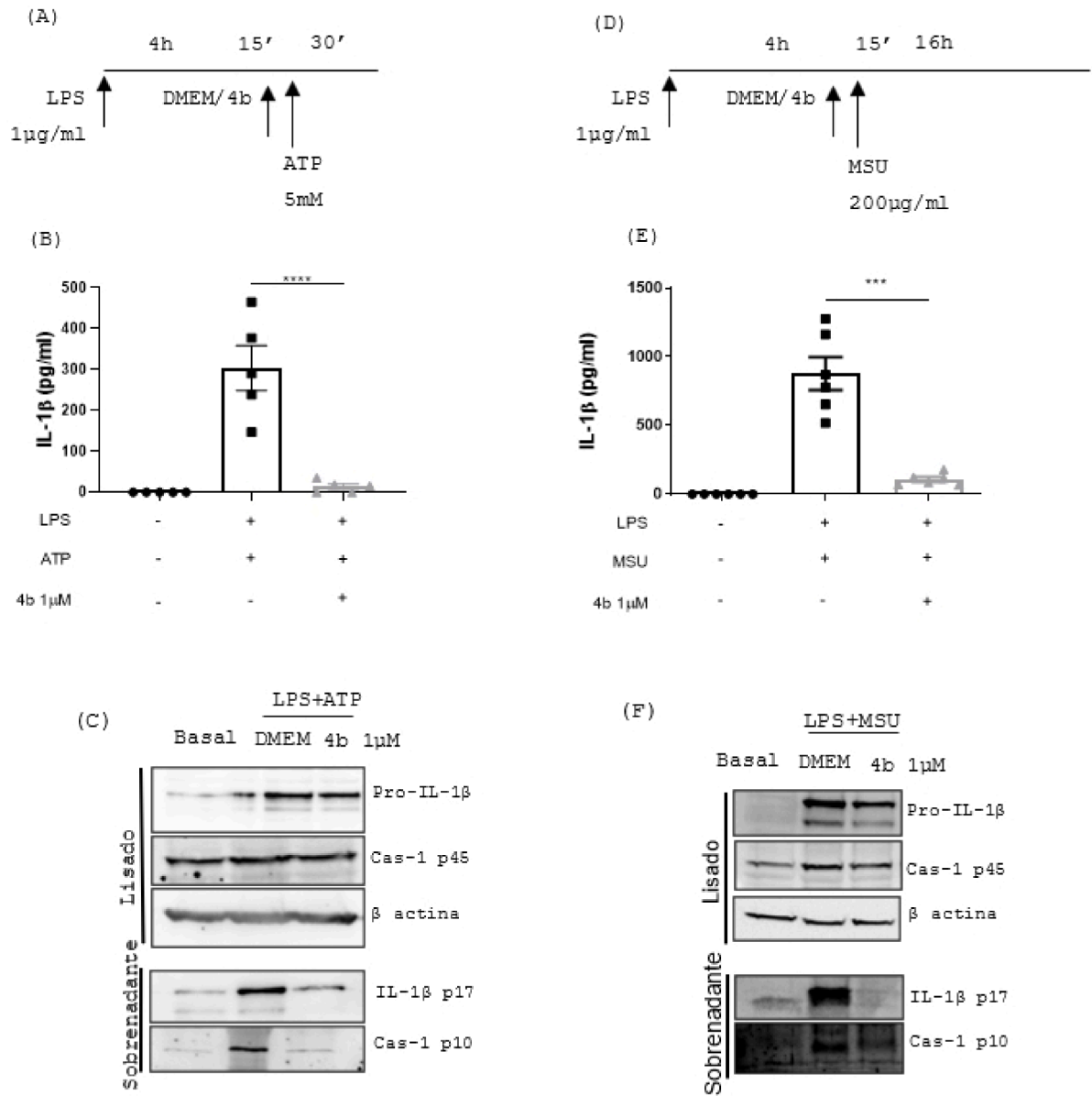


FIGURA 1

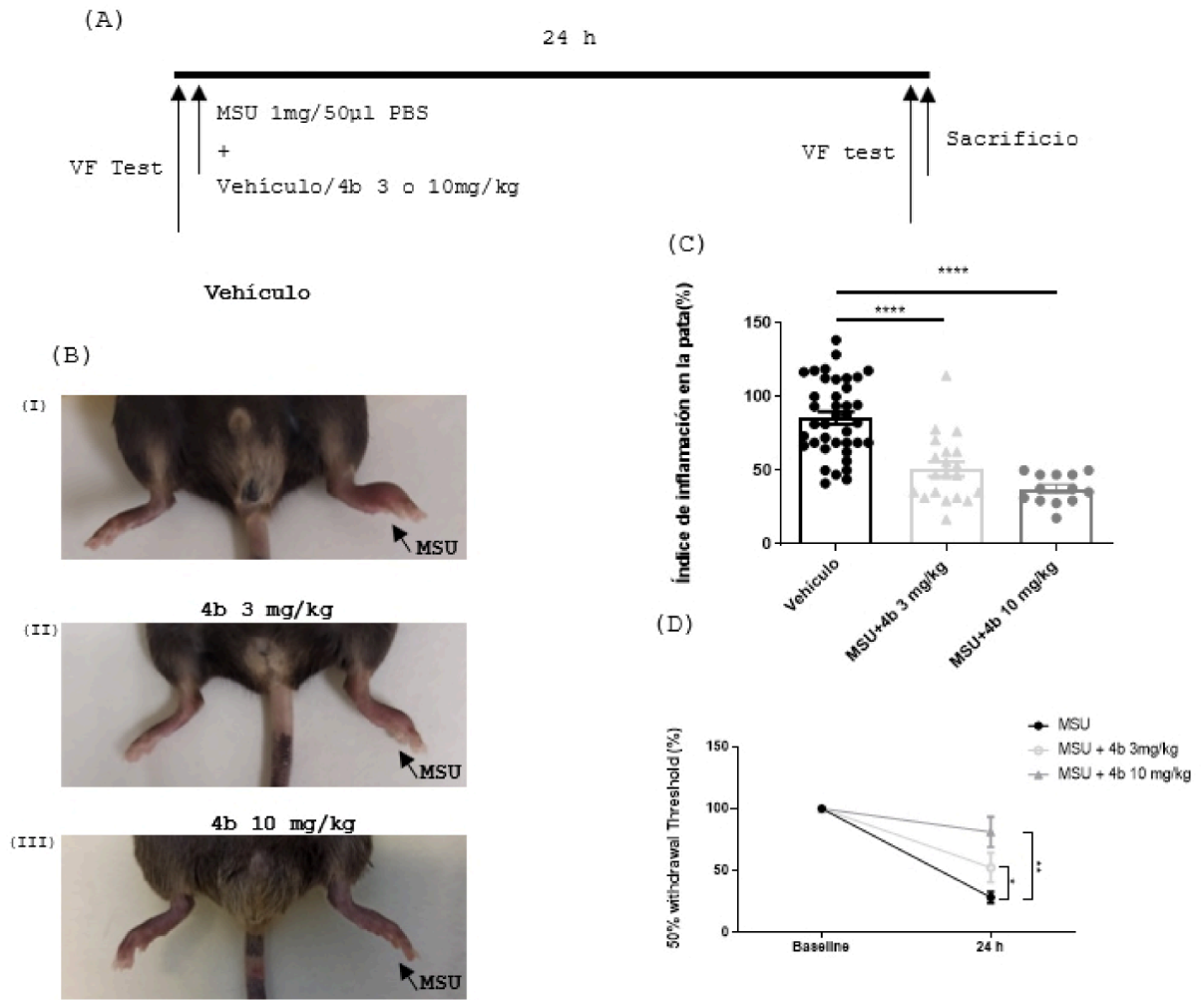


FIGURA 2



- ② N.º solicitud: 202130839
② Fecha de presentación de la solicitud: 08.09.2021
③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 2016/131098 A1 (THE UNIVERSITY OF QUEENSLAND & THE PROVOST, FELLOWS, FOUNDATION SCHOLARS, AND THE OTHER MEMBERS OF BOARD, OF THE COLLEGE OF THE HOLY AND UNDIVIDED TRINITY OF QUEEN ELIZABETH NEAR DUBLIN) 25.08.2016, párrafos [0001], [0017], [00111], [00200]; página 86, esquema; páginas 87-88, método C; páginas 97-98.	1-12
X	EP 3407877 B1 (GALDERMA RESEARCH & DEVELOPMENT) 03.08.2017, párrafos [0001], [0012], [0013], [0015], [0034], [0035], [0042].	1-3, 8-12
Y		7
Y	URBAN, F.J. et al. "Novel Synthesis of 1-(1,2,3,5,6,7-Hexahydro-s-indacen-4-yl)-3-[4-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl)-furan-2-sulfonyl]urea, an Anti-inflammatory Agent". Synthetic Communications 2003, Volumen 33, Número 12, página 2029-2043. [Disponible en línea el 17.06.2006]. DOI: 10.1081/SCC-120021029. ISSN: 0039-7911; 1532-2432 (en línea). Ver páginas 2029-2030, resumen y compuesto 1; página 2032, esquema; página 2034, esquema 2.	7
X	EP 0964859 B1 (PFIZER INC.) 30.07.1998, párrafos [0001], [0009]-[0011], [0197]; ejemplo 112.	1-3, 8-12
X	DK 200600313 L (NOVO NORDISK A/S) 13.03.2006, párrafos [0001], [0011], [0012], [00135].	1-3, 8-12
X	HARRISON, D. et al. "Discovery of a series of ester-substituted NLRP3 inflammasome inhibitors". Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2020, Volumen 30, Número 23, página 127560. [Disponible en línea el 18.09.2020]. DOI: 10.1016/j.bmcl.2020.127560. ISSN: 1464-3405; 0960-894X (en línea). [Recuperado el 15.07.2022]. Recuperado de: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X20306715 >. Ver página 1, resumen; página 2, tabla 1; página 3, columna 1, párrafo 1.	1-5

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
22.07.2022

Examinador
G. Esteban García

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D307/56 (2006.01)

A61K31/341 (2006.01)

A61P19/06 (2006.01)

A61P19/02 (2006.01)

A61P25/00 (2006.01)

A61P9/00 (2006.01)

A61P17/06 (2006.01)

A61P1/18 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTE, BIOSIS, MEDLINE, NPL, XPESP, GOOGLE SCHOLAR, NCBI (PUBMED)