

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 691**

51 Int. Cl.:

A61K 31/196 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/06 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
C07D 319/08 (2006.01)
C07C 233/54 (2006.01)
C07D 307/79 (2006.01)
A61K 8/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.02.2010 E 14170446 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2020 EP 2805746**

54 Título: **Compuestos de alquilamido y usos de los mismos**

30 Prioridad:

16.02.2009 EP 09425056
18.05.2009 US 179062 P
17.12.2009 US 287461 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.02.2021

73 Titular/es:

NOGRA PHARMA LIMITED (100.0%)
33 Sir John Rogerson's Quay
Dublin 2/IE, IE

72 Inventor/es:

BARONI, SERGIO;
BELLINIA, SALVATORE y
VITI, FRANCESCA

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

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

ES 2 806 691 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

Compuestos de alquilamido y usos de los mismos

5 Antecedentes

Los Receptores Activados por Proliferadores de Peroxisomas (PPAR) son miembros de la superfamilia de receptores de hormonas nucleares, que son factores de transcripción activados por ligandos que regulan la expresión génica. Determinados PPAR desempeñan papeles en la regulación de la diferenciación celular, del desarrollo y del metabolismo de organismos superiores.

Se han identificado tres tipos de PPAR: alfa, expresado en el hígado, riñón, corazón y otros tejidos y órganos, beta/delta expresados por ejemplo en el cerebro, y gamma, expresados de tres formas: gamma 1, gamma 2, y gamma 3. Los receptores de PPARy se han asociado a varios estados de enfermedad, incluyendo dislipidemia, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, aterosclerosis, aterogénesis, hipertrigliceridemia, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, enfermedades vasculares, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, obesidad, inflamación, artritis, cáncer, enfermedad de Alzheimer, trastornos de la piel, enfermedades respiratorias, trastornos oftálmicos, EII (enfermedad del intestino irritable), colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.

Además, el tratamiento de las células tumorales con ligandos de receptores de PPARy puede inducir una reducción de la proliferación celular, la diferenciación celular y la apoptosis, y por lo tanto, puede resultar útil en la prevención de la carcinogénesis. La actividad antiinflamatoria intestinal podría ser dependiente de la unión y posterior activación de los receptores de PPARy.

Adicionalmente, numerosos estudios han indicado que los inhibidores del receptor del EGF pueden controlar la proliferación y la propagación de tumores.

Por consiguiente, las moléculas que modulan la actividad de los receptores PPARs y/o EGF son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de tales enfermedades.

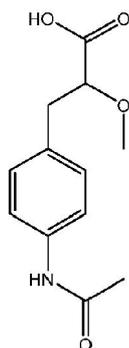
La patente US nº 4.933.330 da a conocer composiciones farmacéuticas para la utilización en el tratamiento de soriasis, que comprenden ácido 4-aminosalicílico (4-ASA) o ácido 5-aminosalicílico (5-ASA). La publicación de patente internacional nº WO 2008/104557 da a conocer en su título, agonistas de PPAR-gamma para la inducción de la expresión de péptidos antimicrobianos catiónicos como estimulantes inmunoprotectores. La solicitud publicada de patente US nº 2003/229083 da a conocer en su resumen, compuestos antidiabéticos, hipolipidémicos, antiobesidad e hipocolesterolémicos de fórmula (I) definida en la misma. La publicación de patente internacional nº WO 2005/084658 da a conocer en su título, derivados de actarit y la utilización terapéutica de los mismos. La publicación de patente internacional nº WO 2007/010516 da a conocer en su título, compuestos y sales de los mismos específicos de los receptores de PPAR y los receptores de EGF, y la utilización de los mismos en el campo médico.

40 Descripción resumida

La presente exposición se refiere de manera general a compuestos que pueden ser específicos de receptores de PPAR y/o receptores de EGF, y a la utilización de los mismos como, por ejemplo, agentes medicinales. También se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto dado a conocer, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención es tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula:

50



con una configuración S, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la utilización en el tratamiento de una condición dermatológica. En una realización, el compuesto está destinado a la utilización en el tratamiento de

ictiosis, enfermedad de Darrier, trastornos de la piel debido a exposición a la radiación UV, envejecimiento de la piel, seborrea simple o dermatitis seborreica, dermatitis atópica o soriasis.

5 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable para la utilización en el tratamiento de una condición dermatológica.

10 En una realización, la composición farmacéutica está destinada a la utilización en el tratamiento de ictiosis, enfermedad de Darrier, trastornos de la piel debido a exposición a la radiación UV, envejecimiento de la piel, seborrea simple o dermatitis seborreica, dermatitis atópica o soriasis.

Breve descripción de las figuras

15 La figura 1 describe el % de mortalidad de ratones que reciben TNBS (ácido trinitrobenzenosulfónico) frente a los ratones que reciben TNBS y N-acetil E2 en un modelo de colitis de murino.

La figura 2 describe el nivel observado de lesiones en el colon de ratones que reciben TNBS frente a ratones que reciben TNBS y N-acetil E2 en un modelo de colitis de murino.

La figura 3 describe el nivel observado de actividad de MPO en ratones que reciben TNBS frente a ratones que reciben TNBS y N-acetil E2 en un modelo de colitis de murino.

20 La figura 4 describe el nivel observado de inflamación del colon en ratones que reciben TNBS frente a ratones que reciben TNBS y N-acetil E2 en un modelo de colitis de murino.

La figura 5 describe efectos de un compuesto dado a conocer sobre queratinocitos humanos.

La figura 6 describe la inhibición de FNT alfa por H₂O₂ y un compuesto dado a conocer.

La figura 7 describe la inhibición sobre la expresión de IL-6 por ARNm inducida por la presencia de IFN-gamma.

25 La figura 8 describe la inhibición de un compuesto dado a conocer sobre la activación de NF-kB.

La figura 9 describe la inhibición de un compuesto dado a conocer sobre la expresión de proteína de IL-6 inducida por la presencia de LPS.

La figura 10 describe el efecto de un compuesto dado a conocer sobre sebocitos.

30 La figura 11 describe la capacidad inhibidora de un compuesto dado a conocer sobre la sebogénesis inducida por el estímulo de tipo lípido.

La figura 12 describe los resultados de un ensayo de ácido graso (A) y el análisis de escualeno (B) de la inhibición de la sebogénesis.

Descripción detallada

35 Las características y otros detalles de la descripción se describirán ahora más largamente. Antes de seguir describiendo la presente invención, se recogen determinados términos empleados en la especificación, ejemplos y reivindicaciones adjuntas. Estas definiciones deben leerse a la luz del resto de la divulgación y entenderse tal como lo haría alguien versado en la materia. A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos
40 usados en la presente tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por una persona normalmente versada en la materia.

Definiciones

45 "Tratamiento" incluye cualquier efecto, por ejemplo disminución, reducción, modulación o eliminación que dé lugar a la mejoría en la condición, enfermedad, trastorno y similares.

50 El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en la presente, se refiere a cualquiera y a todos los solventes, medio de dispersión, recubrimientos, agentes isotónicos y de retraso de absorción y similares, que son compatibles con la administración farmacéutica. El uso de tales medios de agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Las composiciones también pueden contener otros compuestos activos que proporcionan funciones terapéuticas suplementarias, adicionales o mejoradas.

55 El término "composición farmacéutica" tal como se usa en la presente se refiere a una composición que comprende al menos un compuesto como se divulga en la presente, formulado conjuntamente con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

60 "Individuo", "paciente" o "sujeto" se usan de modo intercambiable e incluyen cualquier animal, incluyendo mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, reses, ovejas, caballos o primates, y del modo más preferido humanos. Los compuestos de la invención pueden administrarse en un mamífero, tal como un ser humano, aunque también pueden ser otros mamíferos, tales como un animal que requiere tratamiento veterinario, p.ej., animales domésticos (p.ej., perros, gatos y similares), animales de granja (p.ej., vacas, ovejas, cerdos, caballos y similares) y animales de laboratorio (p.ej., ratas, ratones, cobayas y similares). El mamífero tratado
65 en los métodos de la invención es deseable mente un mamífero en el cual se desea la modulación de receptores de

PPAR y/o EGF. La "modulación" incluye el antagonismo (p.ej., la inhibición), el agonismo, el antagonismo parcial y/o el agonismo parcial.

En la presente especificación, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad del compuesto objeto de la presente divulgación que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que está siendo buscada por el investigador, veterinario, doctor en medicina u otro personal clínico. Los compuestos de la invención se administran en cantidades terapéuticamente efectivas para tratar una enfermedad. Como alternativa, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto es la cantidad requerida para lograr un efecto terapéutico y/o profiláctico deseado, tal como una cantidad que dé lugar a la prevención o a una disminución de los síntomas asociados con una enfermedad que está asociada con los receptores de PPAR y/o EGF.

El término "sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)" tal como se usa en la presente se refiere a sales de grupos ácidos o básicos que pueden estar presentes en compuestos usados en las presentes composiciones. Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que son de naturaleza básica son capaces de formar una amplia variedad de sales con varios ácidos orgánicos e inorgánicos. Los ácidos que pueden utilizarse para preparar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos básicos son aquellos que forman sales de adición de ácido no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, sales malato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1-dimetil-2-(2-hidroxi-3-naftoato)). Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que incluyen un residuo amino pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con diversos aminoácidos, además de los ácidos mencionados anteriormente. Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que son de naturaleza ácida son capaces de formar sales básicas con diversos cationes farmacológicamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen sales de metal alcalino o de metal alcalinotérreo, y en particular, sales de calcio, magnesio, sodio, litio, zinc, potasio y hierro.

Los compuestos de la divulgación pueden contener uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por lo tanto, pueden existir como estereoisómeros, tales como isómeros geométricos, enantiómeros o diastereoisómeros. El término "estereoisómeros", cuando se usa en la presente, consiste en todos los isómeros geométricos, enantiómeros o diastereoisómeros. Estos compuestos pueden designarse mediante los símbolos "R" o "S", dependiendo de la configuración de sustituyentes alrededor del átomo de carbono estereogénico. Diversos estereoisómeros de estos compuestos, y mezclas de los mismos se divulgan en la presente. Los estereoisómeros incluyen enantiómeros y diastereoisómeros. Las mezclas de enantiómeros o diastereoisómeros pueden designarse como "(±)" en la nomenclatura, pero el experto en la materia reconocerá que una estructura puede denotar un centro quiral de manera implícita.

Los estereoisómeros individuales de los compuestos dados a conocer pueden prepararse sintéticamente a partir de materiales de partida comercialmente disponibles que contengan centros asimétricos o estereogénicos, o mediante la preparación de mezclas racémicas seguida de métodos de resolución bien conocidos por los expertos en la técnica. Estos métodos de resolución se ejemplifican por (1) unión de una mezcla de enantiómeros a un auxiliar quiral, separación de la mezcla resultante de diastereoisómeros por recristalización o cromatografía y liberación del producto ópticamente puro del auxiliar, (2) formación de sales empleando un agente de resolución ópticamente activo, o (3) separación directa de la mezcla de enantiómeros ópticos sobre columnas cromatográficas quirales. Las mezclas estereoisoméricas pueden resolverse también en sus estereoisómeros componentes por métodos bien conocidos, tales como cromatografía de gases de fase quiral, cromatografía de líquidos de alto rendimiento de fase quiral, cristalización del compuesto como un complejo de sales quirales, o cristalización del compuesto en un disolvente quiral. También pueden obtenerse estereoisómeros a partir de intermediarios estereoisoméricamente puros, reactivos y catalizadores, por métodos de síntesis asimétrica bien conocidos.

Los isómeros geométricos también pueden existir en los compuestos dados a conocer. El símbolo denota un enlace que puede ser un enlace sencillo, doble o triple tal como se indica en la presente memoria. Diversos isómeros geométricos y mezclas de los mismos pueden resultar de la disposición de sustituyentes alrededor de un enlace doble carbono-carbono o de la disposición de sustituyentes alrededor de un anillo carbocíclico. Los sustituyentes en torno a un doble enlace carbono-carbono se designan como en la configuración "Z" o "E", en la que los términos "Z" y "E" se utilizan de acuerdo con los estándares de la IUPAC. A menos que se indique lo contrario, las estructuras que ilustran dobles enlaces comprenden tanto los isómeros "E" como los isómeros "Z".

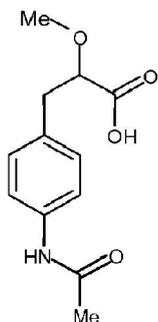
Como alternativa, a los sustituyentes alrededor de un doble enlace de carbono-carbono es posible referirse como "cis" o "trans", en cuyo caso "cis" representa sustituyentes en el mismo lado del doble enlace, y "trans" representa sustituyentes en lados opuestos del doble enlace. La disposición de sustituyentes alrededor de un anillo carbocíclico se designa como "cis" o "trans". El término "cis" representa sustituyentes en el mismo lado del plano del anillo, y el término "trans" representa sustituyentes en lados opuestos del plano del anillo. Las mezclas de compuestos en los cuales los sustituyentes están dispuestos en el mismo lado y en lados opuestos del plano del anillo, se designan como "cis/trans".

Los compuestos dados a conocer en la presente pueden existir en formas solvatada como también no solvatada con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares y la intención es que la invención abarque formas tanto solvatadas como no solvatadas. En una realización, el compuesto es amorfo. En una realización, el compuesto es un polimorfo. En otra realización, el compuesto se encuentra en una forma cristalina.

La invención abarca también compuestos isotópicamente marcados de la invención los cuales son idénticos a los citados en la presente, salvo que uno o más de los átomos sean reemplazados por un átomo que tenga una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa encontrada usualmente en la naturaleza. Entre los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención se incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente.

Determinados compuestos dados a conocer marcados isotópicamente (p.ej., los marcados con ^3H y ^{14}C) resultan útiles en ensayos de distribución en los tejidos de un compuesto y/o sustrato. Los isótopos tritados (es decir, ^3H) y carbono-14 (es decir, ^{14}C) resultan particularmente preferentes por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tales como el deuterio (es decir, ^2H) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas, resultando en una mayor estabilidad metabólica (p.ej., una semivida in vivo incrementada o requisitos de dosis reducidos) y por lo tanto puede resultar preferente bajo algunas circunstancias. Los compuestos marcados isotópicamente de la invención pueden prepararse generalmente siguiendo procedimientos análogos a los dados a conocer en, p.ej., los Ejemplos en la presente memoria mediante la sustitución de un reactivo marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente.

La invención es tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. Los compuestos dados a conocer, y composiciones farmacéuticas, que comprenden por lo menos un compuesto, pueden seleccionarse del grupo que consiste en: ácido N-acetil-(R)-(-)-3-(4-aminofenil)-2-metoxipropiónico (compuesto A), ácido N-acetil-(S)-(-)-3-(4-aminofenil)-2-metoxipropiónico (compuesto B), ácido N-acetil-(S)-(-)-3-(4-aminofenil)-2-metoxipropiónico racémico (compuesto AB),



o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables.

La presente divulgación también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos tales como se divulgan en la presente, formulados conjuntamente con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Estas formulaciones incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, tópica, bucal y parenteral (por ejemplo, subcutánea, intramuscular, intradérmica o intravenosa), aunque la forma más adecuada de administración en cualquier caso dado dependerá del grado y la severidad de la condición que se esté tratando y de la naturaleza del compuesto particular que se esté usando.

Aplicaciones terapéuticas

Los compuestos dados a conocer pueden usarse en métodos para modular la actividad de uno o más receptores de PPAR y/o de EGF exponiendo dicho receptor ha dicho compuesto. Por ejemplo, los compuestos dados a conocer pueden usarse en métodos de tratamiento de una enfermedad asociada con la expresión o la actividad de uno o más receptores de PPAR y/o EGF en un paciente, los cuales comprenden administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención.

Los compuestos dados a conocer en la presente memoria pueden utilizarse en métodos de tratamiento de condiciones dermatológicas, tales como el tratamiento de por lo menos uno de: acné vulgar, acné de tipo comedogénico, acné polimórfico, acné rosácea, acné noduloquístico, acné conglobata, acné senil, acné secundario, acné solar, acné medicamentoso o acné ocupacional, ictiosis, enfermedad de Darrier, queratosis palmar o plantar, soriasis cutánea, mucosa o ungueal, trastornos de la piel debido a la exposición a la radiación UV, envejecimiento de la piel, pigmentaciones y queratosis fotoinducidas, cronológicas o actínicas, acné hiperseborreica, seborrea simple o dermatitis seborreica, trastornos de la cicatrización o estrías. Los compuestos dados a conocer en la presente memoria

también pueden utilizarse en métodos de tratamiento de la dermatitis atópica. La composición puede administrarse oralmente o tópicamente.

5 Por ejemplo, la producción continua de sebo puede incrementarse en los pacientes con acné; y la aplicación de un inhibidor del sebo, tal como se divulga en la presente, puede ser útil en el tratamiento del acné, seborrea o alopecia. En otro ejemplo, la inflamación crónica de los folículos del cabello (queratinocitos) puede ser una indicación de, por ejemplo, alopecia androgénica. Un inhibidor de tal inflamación, tal como se divulga en la presente, puede ser útil en el tratamiento de la pérdida del cabello, por ejemplo.

10 Los compuestos de la invención pueden administrarse a pacientes (animales y humanos) que necesiten tal tratamiento en dosis que proporcionarán eficacia farmacéutica óptima. Se apreciará que la dosis requerida para uso en cualquier aplicación particular variará de paciente a paciente, no solamente con el compuesto particular o la composición seleccionada, sino también con la ruta de administración, la naturaleza de la condición que esté tratándose, la edad y la condición del paciente, la medicación concurrente o dietas especiales que el paciente esté siguiendo y otros factores
15 que reconocerán aquellos expertos en la materia, y la dosis apropiada en últimas se encuentra a discreción del médico tratante. Para tratar las condiciones y enfermedades clínicas anotadas antes, el compuesto de esta invención puede administrarse por vía oral, tópica, parenteral, mediante spray de inhalación o por vía rectal en formulaciones de unidad posológica que contienen soportes, adyuvantes y vehículos convencionales, no tóxicos, farmacéuticamente aceptables. El término parenteral, tal como se usa en la presente, incluye inyecciones cutáneas, intravenosas,
20 intramusculares, intraesternales o técnicas de infusión.

En general, una cantidad terapéuticamente efectiva de componente activo estará en el intervalo de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg, opcionalmente de 1 mg/kg a 100 mg/kg, opcionalmente de 1 mg/kg a 10 mg/kg. La cantidad administrada dependerá de variables tales como el tipo y el grado de la enfermedad o la indicación que se va a tratar, el estado de
25 salud general del paciente particular, la eficacia biológica relativa de los compuestos, la formulación de compuestos, la presencia y los tipos de excipientes en la formulación, y la vía de administración. La dosificación inicial administrada puede incrementarse más allá del nivel superior para lograr rápidamente el nivel deseado en la sangre o el tejido, o la dosificación inicial puede ser menor que la óptima, y la dosificación diaria puede incrementarse progresivamente durante el curso de tratamiento, dependiendo de la situación particular. Puede optimizarse la dosificación para
30 humanos, por ejemplo, en un estudio de aumento a escala de la dosis de fase I convencional, diseñado para ir de 0,5 mg/kg a 20 mg/kg. La frecuencia de la dosificación puede variar, dependiendo de factores tales como la vía de administración, la cantidad de dosificación y la condición de enfermedad que está siendo tratada. Ejemplos de frecuencias de dosificación son una vez por día, una vez por semana y una vez cada dos semanas.

35 Las formulaciones o composiciones contempladas comprenden un compuesto dado a conocer, e incluyen típicamente un compuesto y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones contempladas pueden administrarse por varios medios, dependiendo de su uso deseado, como es bien sabido en la técnica. Por ejemplo, si las composiciones de la presente invención se van a administrar
40 oralmente, pueden formularse como tabletas, comprimidos, gránulos, polvos o jarabes. En forma alternativa, las formulaciones de la presente invención pueden administrarse parenteralmente como inyecciones (intravenosa, intramuscular o subcutánea), preparaciones de infusión para goteo o enemas o supositorios. Para aplicación por la vía de la membrana mucosa oftálmica, las composiciones de la presente invención pueden formularse como gotas oftálmicas o ungüentos oftálmicos. Estas formulaciones pueden prepararse por medios convencionales y, si se desea,
45 las composiciones pueden mezclarse con cualquier aditivo convencional, tal como un excipiente, un aglutinante, un agente de desintegración, un lubricante, un correctivo, un agente de solubilización, un auxiliar de suspensión, un agente emulsificante o un agente de recubrimiento.

En las formulaciones de la presente invención, agentes humectantes, emulsionantes, y lubricantes tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y de perfume, conservantes y antioxidantes, pueden estar
50 presentes en los agentes formulados.

Las presentes composiciones pueden ser adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal, por aerosol y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en
55 forma de dosificación unitaria, y pueden prepararse por cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. La cantidad de composición que puede combinarse con un material de vehículo para producir una dosis individual varía dependiendo del sujeto que está siendo tratado, y el modo de administración particular.

60 Los métodos de preparación de estas formulaciones incluyen el paso de poner en asociación las composiciones de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación uniformemente e íntimamente los agentes con vehículos líquidos, o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, moldeando el producto.

65 Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden estar en la forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, grageas (usando una base saborizada, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos,

o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia), y cada una contiene una cantidad predeterminada de una composición de las mismas como un ingrediente activo. Las composiciones de la presente invención pueden administrarse también como un bolo, electuario o pasta.

En las formas de dosificación sólida para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, comprimidos revestidos con película, comprimidos revestidos con azúcar, polvos, gránulos y similares), la composición objetivo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) materiales de carga o expansores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinil pirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, determinados silicatos, y carbonato sódico; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato sódico, y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones también pueden comprender agentes reguladores de pH. Las composiciones sólidas de un tipo similar se pueden usar también como agentes de carga en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras que usan dichos excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

Las formulaciones y composiciones pueden incluir cristales micronizados de los compuestos dados a conocer. La micronización puede llevarse a cabo en cristales de los compuestos solos, o sobre una mezcla de cristales y una parte o el total de los vehículos o excipientes farmacéuticos. El tamaño medio de partícula de los cristales micronizados de un compuesto dado a conocer puede ser, por ejemplo, de 5 a 200 micras, o de 10 a 110 micras.

Puede prepararse un comprimido por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Pueden prepararse comprimidos prensados usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón de sodio o carboximetilcelulosa de sodio reticulada), agente tensioactivo o agente de dispersión. Pueden hacerse comprimidos moldeados moldeando en una máquina adecuada una mezcla de la composición objetivo que está humedecida con un diluyente líquido inerte. Comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas, tales como comprimidos recubiertos de película o comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ser opcionalmente ranuradas o preparadas con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de la composición objetivo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes de solubilización y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y ajonjolí), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, ciclodextrinas, y mezclas de los mismos.

Las suspensiones, además de la composición objetivo, pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones para administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, el cual puede prepararse mezclando una composición objetivo con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprendan, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, y el cual sea sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura del cuerpo y, por lo tanto, se fundirá en la cavidad del cuerpo y liberará el agente activo. Las formulaciones que son adecuadas para administración vaginal incluyen también pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de spray que contienen tales vehículos como se sabe en la técnica que son adecuados.

Las formas de dosificación para administración transdérmica o tópica de una composición objetivo incluyen polvos, rocíos, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El componente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, regulador de pH o propelente que pueda requerirse.

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de una composición objetivo, excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y sprays pueden contener, además de una composición objetivo, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y poliamida en polvo, o mezclas de estas sustancias. Los sprays pueden contener adicionalmente los propelentes acostumbrados, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

Las composiciones y los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma alternativa por aerosol. Ello se logra preparando un aerosol acuoso, preparación liposómica o partículas sólidas que contengan el compuesto. Podría usarse una suspensión no acuosa (por ejemplo, propelente de fluorocarbono). Pueden usarse nebulizadores sónicos debido a que reducen al mínimo la exposición del agente al esfuerzo cortante, lo cual puede dar lugar a la degradación de los compuestos contenidos en las composiciones objetivo.

Ordinariamente, se hace un aerosol acuoso formulando una suspensión o solución acuosa de una composición objetivo junto con vehículos y estabilizadores farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizadores varían con los requerimientos de la composición objetivo, pero incluyen típicamente agentes tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic o polietilenglicol), proteínas inocuas tales como albúmina de suero, ésteres de sorbitán, ácido oleico, lecitina, aminoácidos tales como glicina, reguladores de pH, sales, azúcares o alcoholes de azúcar. Se preparan generalmente aerosoles, a partir de soluciones isotónicas.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención, adecuadas para administración parenteral, comprenden una composición objetivo en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles los cuales pueden ser reconstituidos en dispersiones o soluciones inyectables estériles poco antes de su uso, los cuales pueden contener antioxidantes, reguladores de pH, bacteriostatos o solutos, los cuales hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor deseado, o agentes de suspensión o espesantes.

Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo y ciclodextrinas. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, por el uso de materiales de recubrimiento tales como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y por el uso de agentes tensioactivos. La eficacia de tratamiento con las composiciones objetivo puede determinarse de muchas maneras conocidas por los expertos en la materia.

A lo largo de la descripción, en donde se describe que las composiciones tienen, incluyen o comprenden componentes específicos, se contempla que las composiciones consisten también esencialmente, o consisten en los componentes citados. Asimismo, en donde se describen procedimientos que tienen, que incluyen o que comprenden pasos específicos de procedimiento los procedimientos consisten también esencialmente o consisten en los pasos de tratamiento citados. Salvo en donde se indique de otra manera, el orden de los pasos o el orden para realizar ciertas acciones carece de importancia, en tanto la invención continúe siendo operable. Además, a menos que se indique de otra manera, dos o más pasos o acciones pueden llevarse a cabo simultáneamente.

Ejemplos

Los compuestos dados a conocer pueden prepararse de muchas maneras bien conocidas por los expertos en la técnica de síntesis orgánica. Más específicamente, los compuestos dados a conocer pueden prepararse usando las reacciones y técnicas descritas en la presente. En la descripción de los métodos de síntesis descritos a continuación, se entenderá que todas las condiciones de reacción propuestas, incluyendo la elección del solvente, la atmósfera de reacción, la temperatura de reacción, la duración del experimento y los procedimientos de preparación, pueden seleccionarse para que sean las condiciones estándar para esa reacción, a menos que se indique de otra manera. Los expertos en la técnica de síntesis orgánica entenderán que la funcionalidad presente en diversas porciones de la molécula debe ser compatible con las reacciones y los reactivos propuestos. Los sustituyentes no compatibles con las condiciones de reacción serán evidentes para los expertos en la técnica y, por lo tanto, se indican métodos alternos. Los materiales de partida para los ejemplos están disponibles comercialmente, o se preparan fácilmente mediante métodos estándar a partir de materiales conocidos.

Ejemplo 1. Preparación de ácido N-acetil-(R)-(-)-3-(4-aminofenil)-2-metoxipropiónico (N-acetil E2); compuesto A

A ácido (R)-(-)-3-(4-aminofenil)-2-metoxipropiónico (40 g) en un reactor del vidrio de 0,5 L, se añadió acetato de etilo (80 g) y anhídrido acético (62,8 g). La mezcla se agitó a 90°C por 1 hora. Después de enfriamiento, el solvente se removió mediante destilación al vacío, proveyendo un residuo oleoso. A este residuo se añadió agua (120 g) y acetato de etilo (120 g). Después de agitación por 10 minutos a 35°C, las capas se separaron y la capa acuosa se desechó. El solvente de la capa orgánica se removió mediante destilación al vacío. Se añadió entonces acetona (120 g), y la mezcla resultante se calentó hasta que la disolución se completó. La solución se enfrió a 0°C, y el producto se precipitó y se recogió por filtración. El sólido se enjuagó con acetona (20 g) y se secó a 65°C, para dar 26 g del compuesto del título.

Ejemplos 2. Estudios de acoplamiento molecular

Se evaluó la unión de los compuestos A, B y sus derivados no acetilados (así como el ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) y ácido 5-acetamido-hidroxibenzoico) a receptores de PPAR γ y PPAR α .

Mientras que el 5-ASA muestra buena afinidad por el PPAR γ , la N-acetilación del 5-ASA llevó a una estructura lineal rígida que no ocupó el sitio activo de una manera óptima. Ocurrió una pérdida del enlace de hidrógeno entre H449 y el grupo fenólico del compuesto, lo cual puede explicar la inactividad de NAc-5-ASA. La unión del compuesto B y su contraparte no acetilada en el PPAR γ , indicó que estos compuestos pueden activar al receptor con base en los prerrequisitos estructurales de unión del receptor. La superposición de los compuestos indicó que se unen a diferentes partes del sitio activo.

La unión del compuesto A y su contrapartida no acetilada, ácido 3-(4-aminofenil)-2-metoxipropanoico, a PPAR γ indicaba que dichos compuestos también podrían activar el receptor. En contraste con el compuesto B, la superposición de la amina libre del compuesto A y el derivado N-acetilo muestran que ocupan la misma parte del sitio activo, indicando una posible similitud de las actividades.

Ejemplo 3. Modelo anti-colitis murina

Se indujo colitis en ratones C57b16, administrando TNBS (150 mg/kg) por gavaje oral en el día -3. Se tomaron muestras de heces 8 horas después de la administración. En el día 0-5, se administró E2 N-acetilado (30 mM) por gavaje oral. En el día 5, se analizaron los ratones para obtener una puntuación macroscópica de la mortalidad (Wallace, Gastroenterology 96: 29-36, 1989).

Como se muestra en la figura 1, la mortalidad fue comparable entre los ratones a los que se les dio TNBS contra a los que se les dio TNBS y N-acetil E2. Sin embargo, como se muestra en la figura 2, el nivel de lesiones colónicas fue significativamente menor en los ratones a los que se les dio TNBS y N-acetil E2, en comparación a los que se les dio TNBS solo. La figura 3 demuestra cómo la MPO (mieloperoxidasa) disminuyó con la administración de N-acetil E2 con TNBS. En la figura 4, la puntuación de Ameho (Gut 41: 487-493, 1997) indicó que la inflamación colónica había disminuido con la administración de N-acetil E2 con TNBS.

Ejemplo 4. Queratinocitos

Para evaluar el efecto tóxico o citostático posible de las sustancias bajo estudio, se llevó a cabo una prueba espectrofotométrica (MTT). Los queratinocitos primarios humanos, aislados de biopsias de piel, se sembraron en las pocillos de una placa de 24 pocillos en medio adecuado con la adición de antibióticos, calcio y factores de crecimiento específicos. A aproximadamente 70% de confluencia, las células fueron expuestas a la presencia del compuesto A, a varias concentraciones (0,1-1-2 mM), por 24 y 48 horas en un medio adecuado con la adición de antibióticos y calcio, pero sin factores de crecimiento. Esta condición de cultivo se hizo para todos los experimentos subsiguientes. Al final del tratamiento, se hizo la prueba de MTT. Los resultados se indican en la figura 5. El compuesto A en todas las concentraciones usadas no mostró efecto alguno sobre la vitalidad celular.

Ejemplo 5. FNT-alfa

El análisis de la inhibición del compuesto A, de la inducción por el ARNm de la citocina proinflamatoria FNT-alfa por H₂O₂, se llevó a cabo por RT-PCR en tiempo real. Los queratinocitos se sembraron en placas de 6 cm/Ø. A 80% de confluencia, las células se trataron con H₂O₂ (300 µM) en presencia del compuesto A, a las tres concentraciones (0,01-0,1-0,5 mM) por 6 horas. Al final del tratamiento, las células fueron lisadas en un regulador de pH de lisis, y se sometieron a aislamiento y retrotranscripción subsiguiente del ARN. El compuesto A demostró que es capaz de inhibir la expresión del ARNm del FNT- α inducido por H₂O₂ a las dos dosis mayores (0,1 mM; 0,5 mM). La dosis mayor demostró una inhibición completa de la citosina proinflamatoria con un efecto similar a la troglitazona (Tg) (figura 6). El compuesto en todas las concentraciones usadas no demostró efectos sobre la vitalidad celular (figura 6).

Ejemplo 6. Inhibición de la expresión de ARNm de IL-6 inducida por la presencia de IFN- γ

El análisis de la inhibición por el compuesto A, de la inducción por el ARNm de la citocina proinflamatoria IL-6 por el IFN- γ , se hizo a través de RT-PCR en tiempo real. Los queratinocitos se sembraron en placas de 6 cm/Ø.

A 80% de confluencia, las células se trataron con IFN- γ (30 ng/ml) en presencia del compuesto A (N-acetilado) a las tres concentraciones (0,01-0,1-0,5 mM) por 6 horas. Al final del tratamiento, las células fueron lisadas en un tampón de lisis y se sometieron a aislamiento y posterior transcripción inversa del ARN. Los resultados (tal como se muestra en la figura 7) revelan la capacidad del compuesto A de inhibir la expresión de citoquinas inflamatorias inducida por la presencia de IFN- γ que aparentemente no es dependiente de la dosis.

Ejemplo 7. Capacidad inhibitoria de la activación del factor nuclear NF- κ B inducida por la presencia de H₂O₂

La evaluación de la inhibición por el compuesto A de la activación del factor de transcripción nuclear NF- κ B inducida por la presencia de H₂O₂ se llevó a cabo mediante análisis de citofluorimetría.

5 Los queratinocitos se sembraron en pocillos de una placa de 12 pocillos. Los queratinocitos se sembraron en los pocillos de una placa de 12 pocillos. A 80% de confluencia, las células se trataron con H₂O₂ (300 μ M) en presencia del compuesto A, a las tres concentraciones (0,01-0,1-0,5 mM) por 1 hora. Al final del tratamiento, las células fueron fijadas en paraformaldehído, permeabilizadas en metanol e incubadas después en presencia del anticuerpo específico de la subunidad p65. El compuesto A reveló un efecto inhibitorio de la activación y posterior traslocación de NF- κ B de una manera dependiente de la dosis (figura 8).

Ejemplo 8. Inhibición de la expresión proteica de IL-6 inducida por la presencia de LPS

15 El análisis de la inhibición por el compuesto A de la inducción de proteínas IL-6 por LPS (lipopolisacárido) se llevó a cabo con el kit ELISA. Los queratinocitos se sembraron en los pocillos de una placa de 24 pocillos. Al final del tratamiento, el sobrenadante se decantó, se centrifugó para remover cualquier detritus de células, y se mantuvo a -80°C hasta la hora del análisis. La cantidad de IL-6 presente en el sobrenadante fue normalizada por la concentración de proteínas de la muestra misma. Los resultados (figura 9) revelaron la capacidad del compuesto A para inhibir, en una manera dependiente de la dosis, la expresión de proteínas de la citocina inflamatoria en estudio.

20 Ejemplo 9. Sebocitos humanos

Para evaluar el efecto tóxico o citostático posible de las sustancias en estudio se llevó a cabo una prueba espectrofotométrica (MTT). Los sebocitos se sembraron en los pocillos de una placa de 24 pocillos en un medio adecuado con la adición de antibióticos, calcio y EGF. A aproximadamente 70% de confluencia, las células fueron expuestas a la presencia del compuesto A, en varias concentraciones (0,1-0,5-1-2 mM), por 24 y 48 h. Al final del tratamiento, se llevó a cabo la prueba de MTT. El compuesto en todas las concentraciones usadas no demostró efectos sobre la vitalidad celular. (figura 10).

30 Ejemplo 10. Evaluación de la capacidad inhibitoria de un compuesto de la sebogénesis inducida por estímulos de tipo lipídico (ácido linoleico, testosterona)

El análisis de la inhibición por el compuesto A, de la sebogénesis inducida por el tratamiento con ácido linoleico (LA) y con testosterona (TST) se evaluó por espectrofluorimetría, usando rojo Nilo como un marcador selectivo de lípidos intracelulares (prueba de rojo Nilo). Los sebocitos se sembraron en los pocillos de una placa de 24 pocillos. Al día siguiente, fueron privados de suero (2%) y después de 24 horas fueron estimulados, por otras 24 horas, con LA (10-4M), TST (20 nM) en presencia o en ausencia de A (1 mM). Al final del tratamiento, los sebocitos se tiñeron con rojo Nilo. El análisis cuantitativo se hizo por espectrofluorimetría, lo cual hizo posible distinguir entre los lípidos neutros y los lípidos polares con base en las diferentes longitudes de onda de excitación y emisión. Los datos obtenidos revelaron que el tratamiento con LA es capaz de inducir la síntesis de lípidos, y que el tratamiento combinado con LA+TST incrementa aún más este efecto. La presencia de compuesto A demostró ser capaz de reducir el estímulo lipídico. La presencia del compuesto A demostró capacidad para reducir el estímulo lipídico (figura 11).

45 Ejemplo 11. Evaluación de la capacidad inhibitoria de la sebogénesis inducida por estímulos de tipo lipídico (ácido linoleico, testosterona): evaluación de ácidos grasos y escualeno

Para evaluar en mayor detalle la inhibición por el compuesto A de la sebogénesis inducida por LA y TST se llevaron a cabo pruebas en el extracto de lípidos de los sebocitos usando cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masa (GC-MS). Los sebocitos se trataron mediante el esquema descrito para la prueba de rojo Nilo. Al final del tratamiento, las células se removieron, y luego la extracción de lípidos se hizo usando solventes orgánicos. Una parte del extracto se usó para analizar la composición de ácidos grasos, mientras que la otra parte se usó para la determinación de la cantidad de escualeno, un lípido característico del sebo. La prueba de ácidos grasos mostró que el estímulo lipídico inducido por el tratamiento con LA y LA+TST fue reducido por la presencia de A (figura 12A). Estos resultados se confirmaron mediante el análisis de escualeno. (figura 12B).

55 Equivalentes

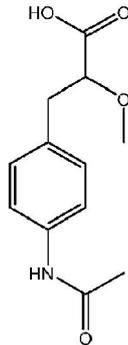
Aunque se han comentado realizaciones específicas de la presente invención, la especificación anteriormente proporcionada es ilustrativa y no limitativa. Muchas variaciones de la invención resultarán evidentes para el experto en la materia tras la revisión de la presente especificación. El alcance completo de la invención deberá determinarse mediante referencia a las reivindicaciones, junto con su alcance completo de equivalentes, y la especificación, junto con dichas variaciones.

65 A menos que se indique lo contrario, todos los números expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etc. utilizadas en la especificación y en las reivindicaciones deben entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos

descritos en esta especificación y en las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas cascadas para obtenerse por la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula:



5

que presenta una configuración S, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la utilización en el tratamiento de una condición dermatológica.

10 2. Compuesto para la utilización según la reivindicación 1 en el tratamiento de ictiosis, enfermedad de Darrier, trastornos de la piel debido a la exposición a radiación UV, envejecimiento de la piel, seborrea simple o dermatitis seborreica, dermatitis atópica o soriasis.

15 3. Composición farmacéutica que comprende el compuesto según la reivindicación 1, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable, para la utilización en el tratamiento de una condición dermatológica.

20 4. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 3 en el tratamiento de ictiosis, enfermedad de Darrier, trastornos de la piel debido a la exposición a radiación UV, envejecimiento de la piel, seborrea simple o dermatitis seborreica, dermatitis atópica o soriasis.

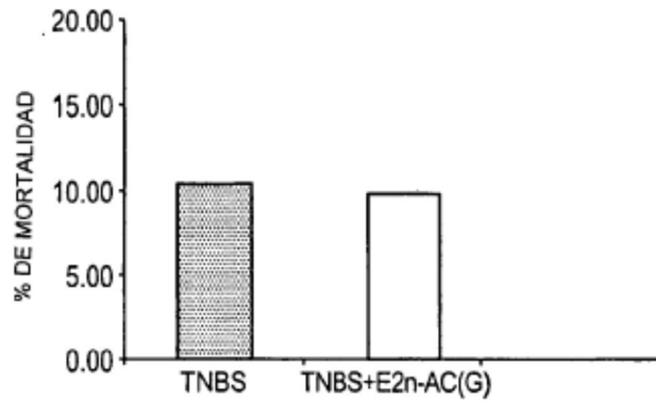


FIG. 1

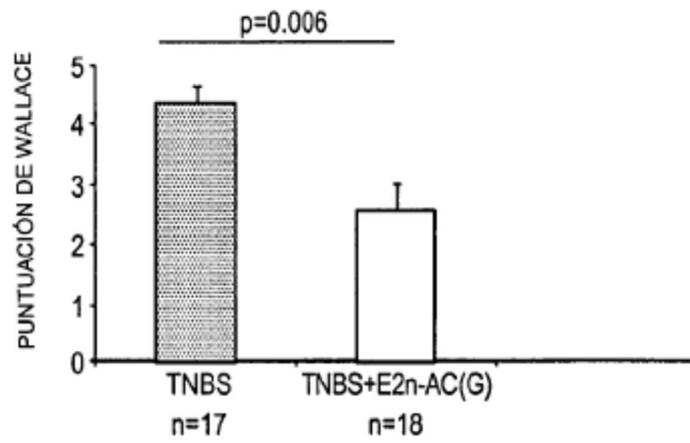


FIG. 2

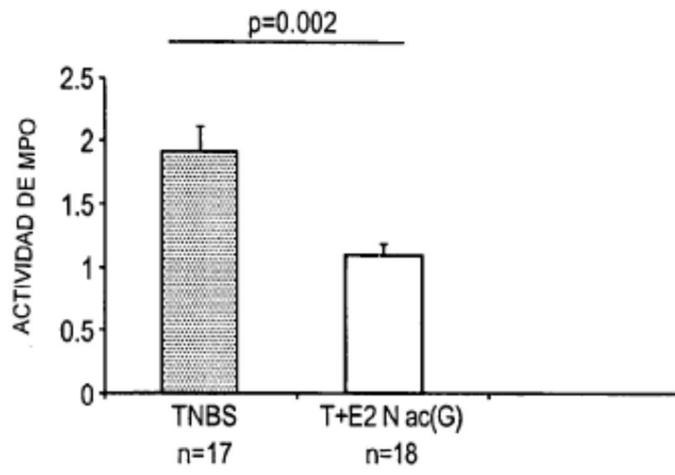


FIG. 3

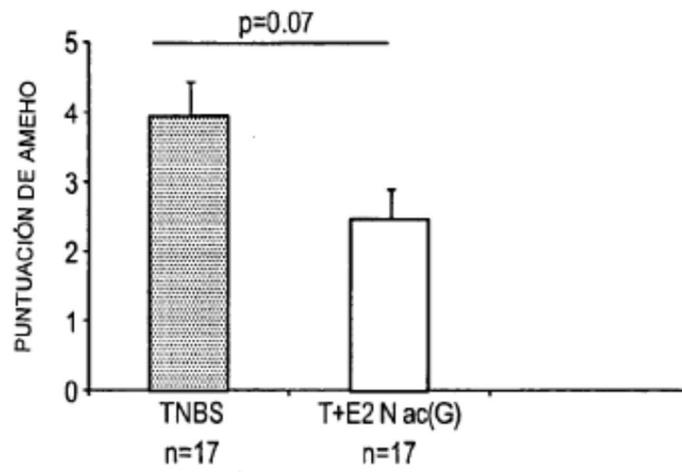


FIG. 4

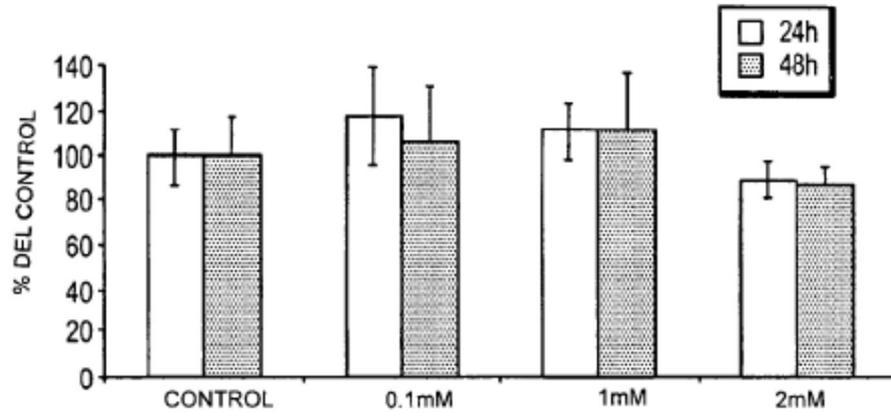


FIG. 5

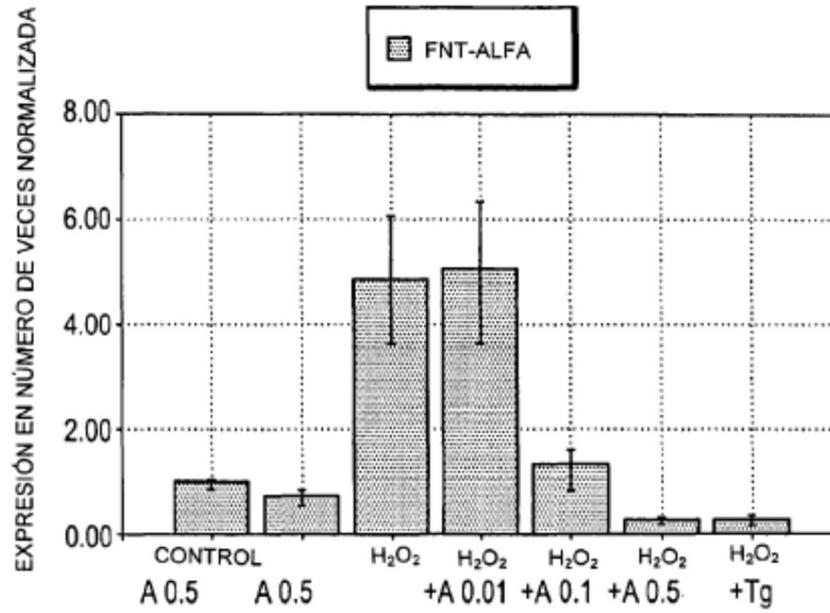


FIG. 6

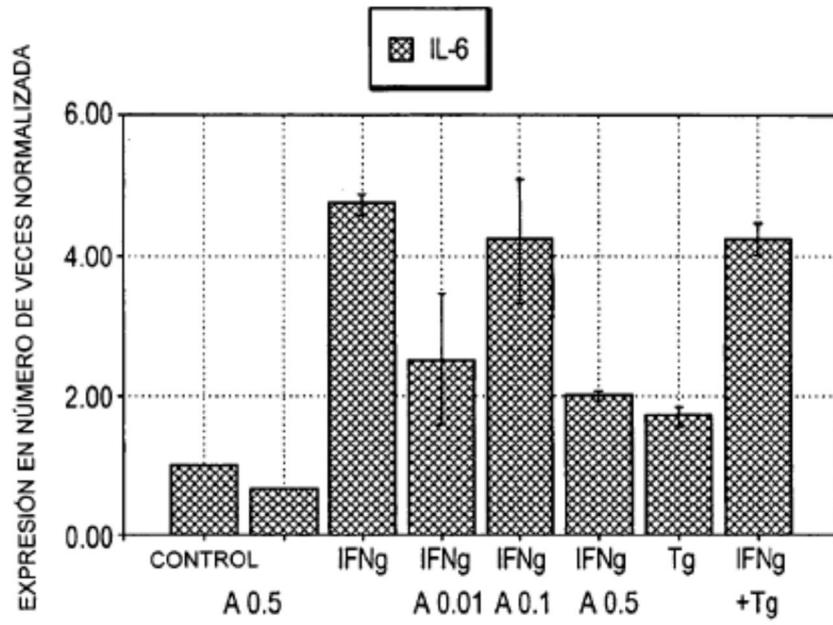


FIG. 7

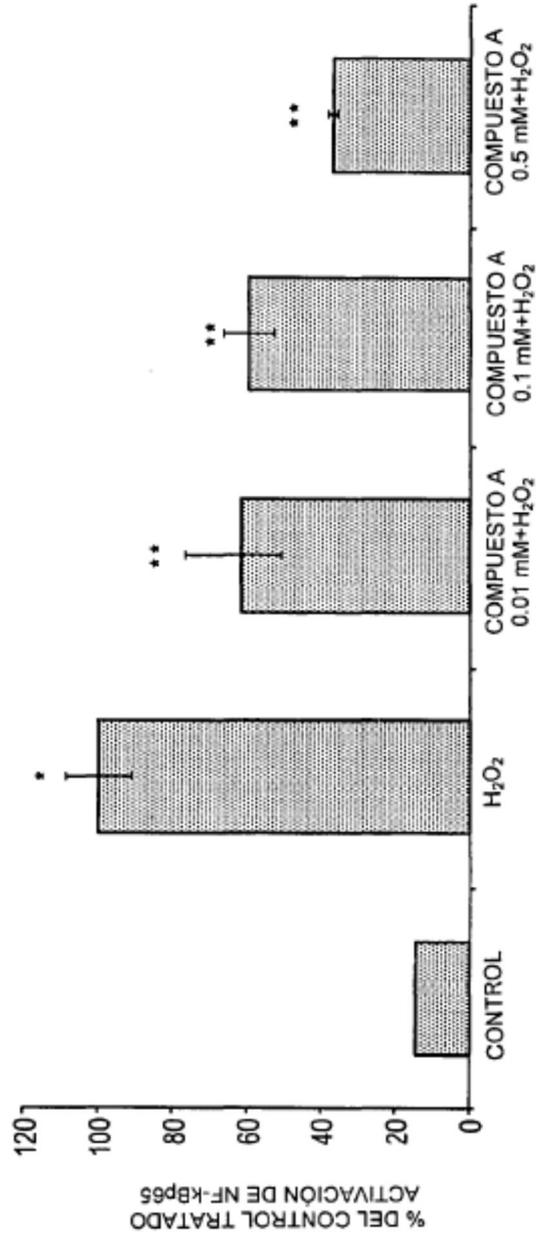


FIG. 8

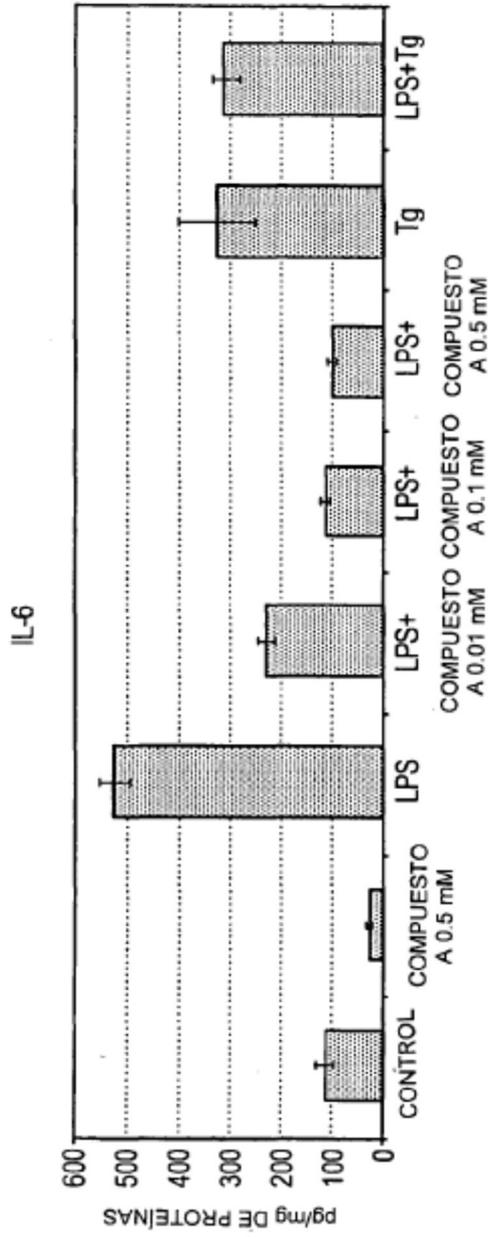


FIG. 9

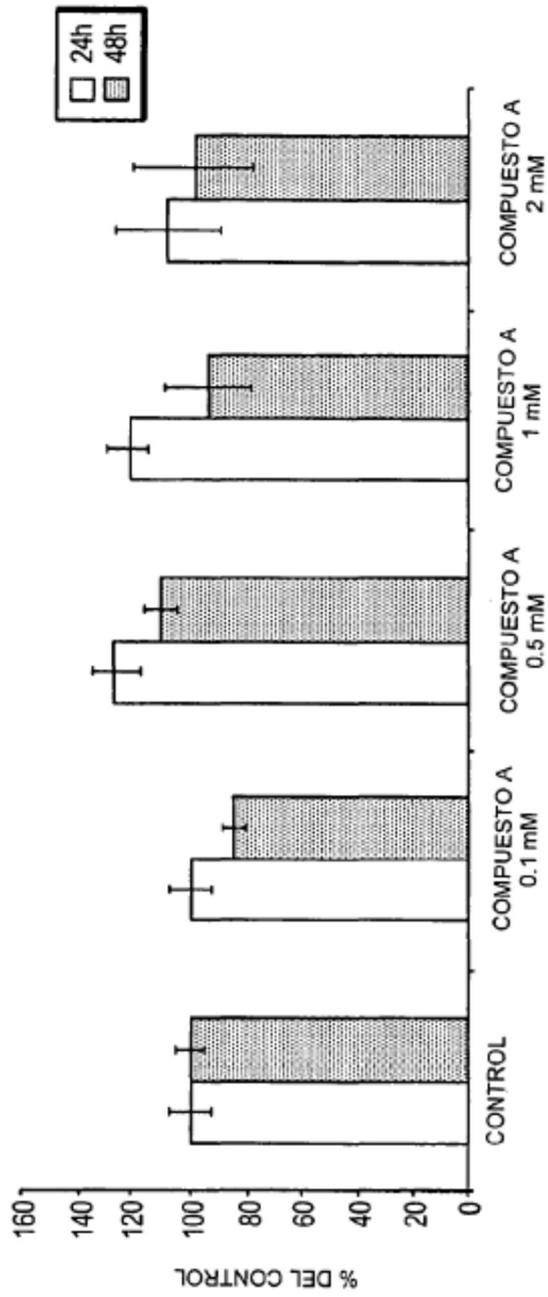


FIG. 10

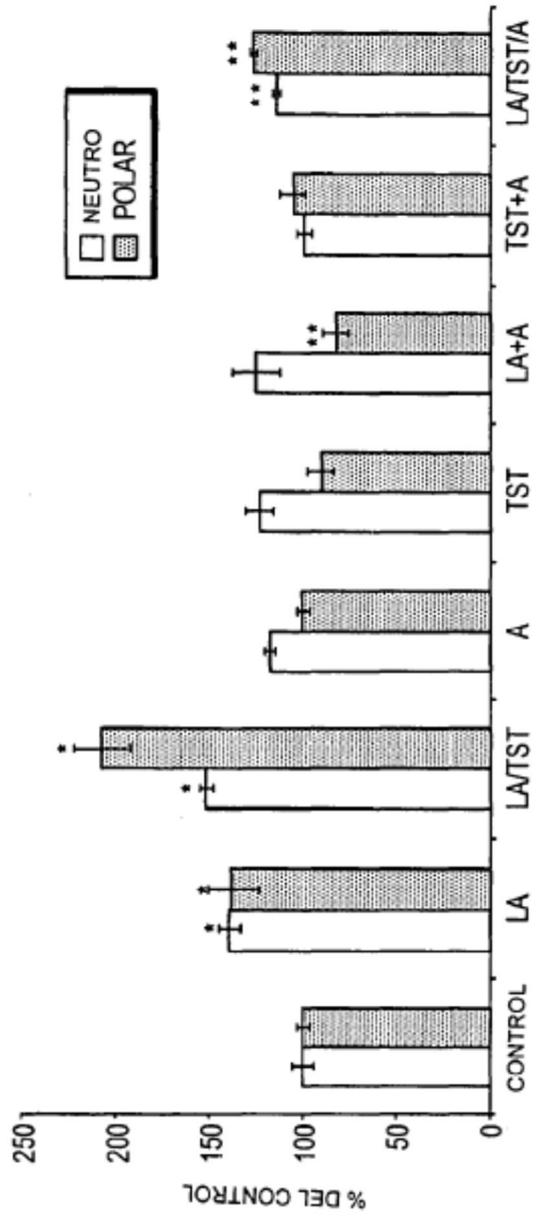


FIG. 11

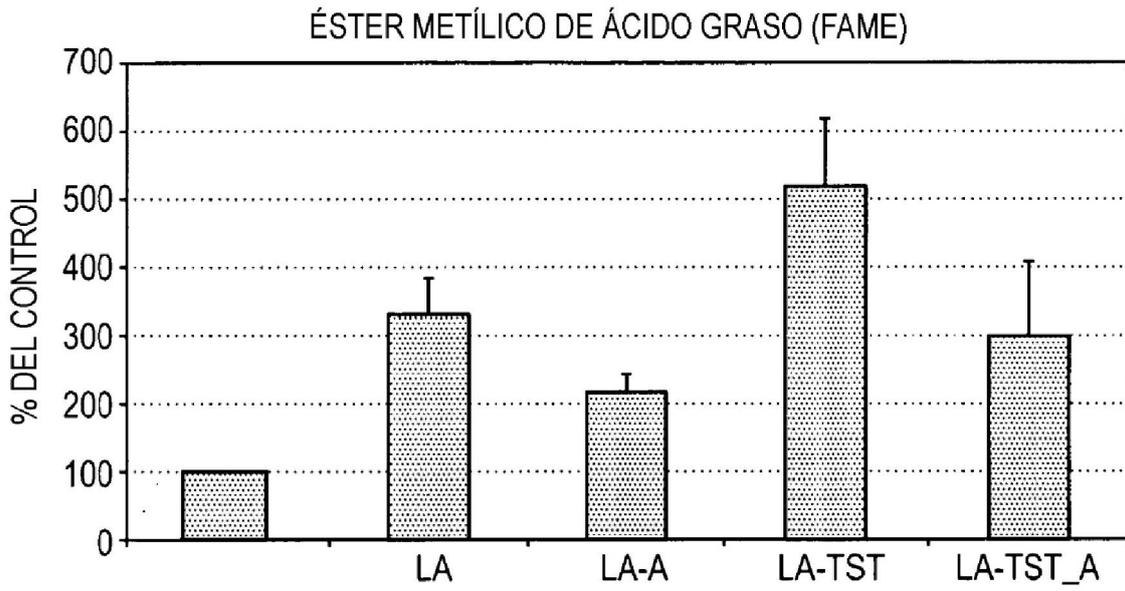


FIG. 12A

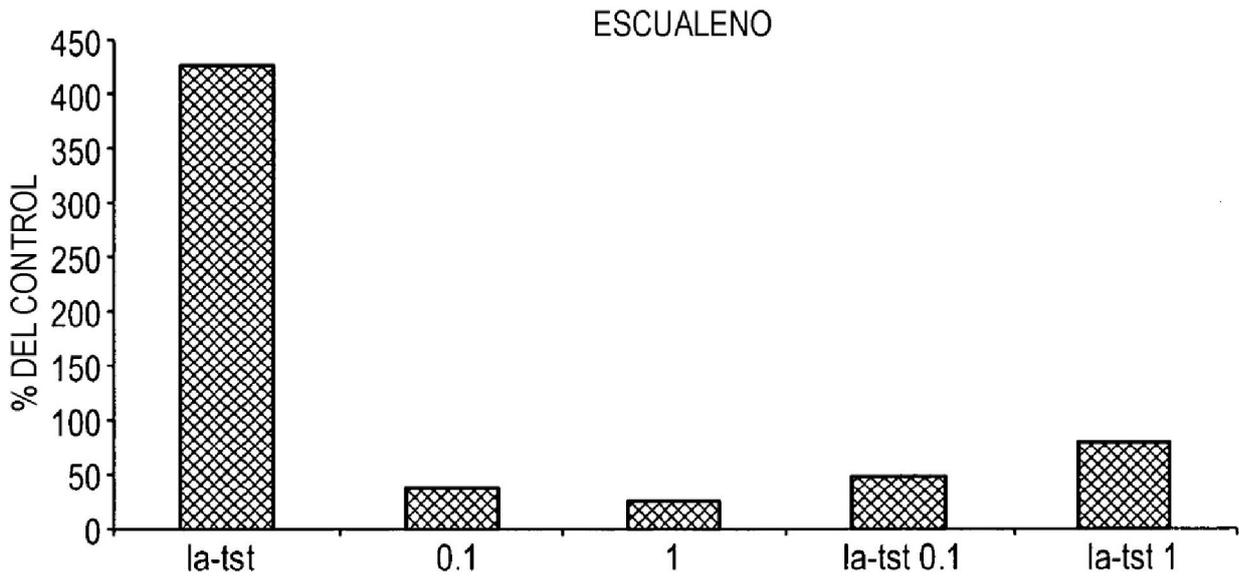


FIG. 12B

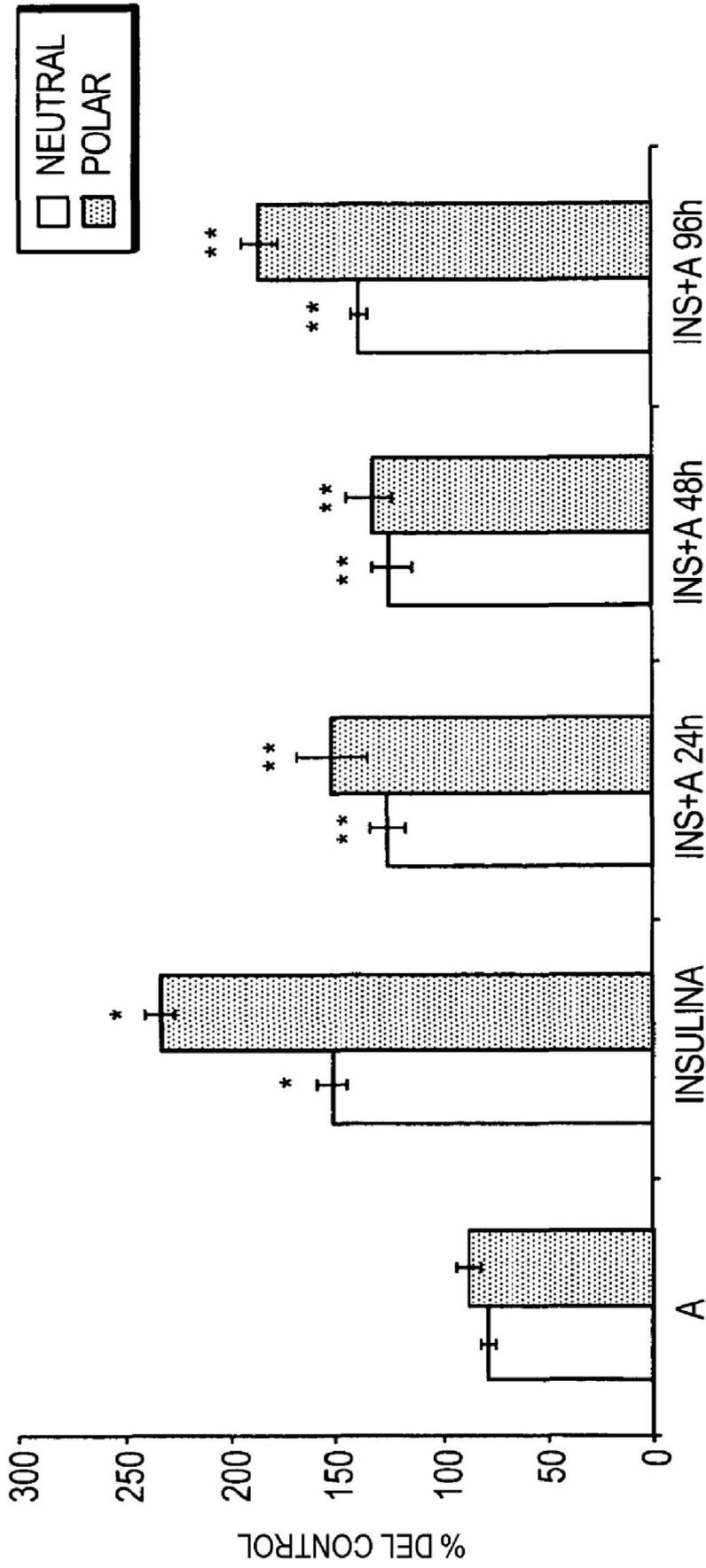


FIG. 13