

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 813 424**

51 Int. Cl.:

A61K 31/19 (2006.01)
A61K 31/194 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 38/22 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07C 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2015** **PCT/US2015/022746**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.10.2015** **WO15148802**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2015** **E 15715606 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020** **EP 3122347**

54 Título: **Derivados de celastrol para el tratamiento de la obesidad**

30 Prioridad:

26.03.2014 US 201461970839 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.03.2021

73 Titular/es:

**THE CHILDREN'S MEDICAL CENTER
CORPORATION (50.0%)
55 Shattuck Street
Boston, Massachusetts 02115, US y
THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**MAZITSCHK, RALPH y
ÖZCAN, UMUT**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

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

ES 2 813 424 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

Derivados de celastrol para el tratamiento de la obesidad

La presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas para su uso en inducir la pérdida de peso o reducir la grasa corporal, o una combinación de las mismas, en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida.

5 **Antecedentes de la invención**

La obesidad es una dolencia médica en la que la grasa corporal en exceso se ha acumulado en la extensión de que puede tener un efecto adverso sobre la salud, conduciendo a una expectativa de vida reducida y/o a un aumento de los problemas de la salud. El índice de masa corporal (IMC), una medición que compara el peso y la altura, define que una persona tiene sobrepeso (preobesa o con sobrepeso) si su IMC está comprendido entre 25 y 30 kg/m², y obesidad cuando es mayor de 30 kg/m². La obesidad es una de las principales causas prevenibles de muerte en todo el mundo, con una prevalencia creciente en adultos y niños. y las autoridades la ven como uno de los problemas de salud pública más serios del siglo 21.

La obesidad aumenta el riesgo de muchas dolencias físicas y mentales. Un peso excesivo del cuerpo está asociado con diversas enfermedades, particularmente enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus de tipo 2, apnea obstructiva del sueño, determinados tipos de cáncer, y artrosis. Como resultado, se ha encontrado que la obesidad reduce la esperanza de vida. Estas enfermedades están producidas tanto directamente por la obesidad como indirectamente relacionados a través de mecanismos que comparten una causa común tales como una mala dieta o un estilo de vida sedentario. Uno de los vínculos más fuertes es con la diabetes de tipo 2. La grasa corporal en exceso subyace en el 64 % de los casos de diabetes en hombres y 77 % de casos en mujeres. Los aumentos en la grasa corporal alteran la respuesta del cuerpo a la insulina, conduciendo potencialmente a la resistencia a la insulina.

La obesidad es una de las principales causas prevenibles de muerte en todo el mundo. La obesidad produce más comúnmente por una combinación de excesiva captación de energía, ausencia de actividad física, y susceptibilidad genética, aunque unos pocos casos están producidos principalmente por genes, trastornos endocrinos, medicaciones o enfermedades psiquiátricas. Se sufren tasas crecientes de obesidad a nivel social que son debidas a una dieta fácilmente accesible y sabrosa, mayor dependencia de los coches, y fabricación mecanizada. Debido al descubrimiento de la leptina en 1994, se han dilucidado muchos otros mecanismos hormonales que participan en la regulación del apetito y en la ingesta de alimento, modelos de almacenamiento del tejido adiposo, y desarrollo de la resistencia a la insulina, incluyendo grelina, insulina, orexina, PYY 3-36, colecistoquinina, y adiponectina.

Las adipoquinas son mediadores producidos por el tejido adiposo; se cree que su acción es modificar muchas enfermedades relacionadas con la obesidad. Se considera que la leptina y la grelina son complementarias en su influencia sobre el apetito, donde la grelina producida por el estómago modula el control del apetito a corto plazo (es decir, comer cuando el estómago está vacío y para cuando el estómago está dilatado). La leptina se produce por el tejido adiposo para señalar las reservas de grasa en el cuerpo, y media en los controles del apetito a largo plazo (es decir, comer más cuando los almacenes de grasa están bajos y menos cuando los almacenes de grasa están altos). Aunque la administración de leptina puede ser eficaz en un pequeño subconjunto de individuos obesos con deficiencia de la leptina, se cree que la mayoría de los individuos obesos son resistentes a leptina y se ha descubierto que tienen altos niveles de leptina. Se cree que esta resistencia explica, al menos en parte, por qué la administración de leptina no ha mostrado ser eficaz en la supresión del apetito en la mayoría de personas obesas.

Aunque la leptina y la grelina se producen periféricamente, controlan el apetito a través de sus acciones sobre el sistema nervioso central. En particular, ellas y otras hormonas relacionadas con el apetito actúan sobre el hipotálamo, una región del cerebro fundamental para la regulación de la ingesta de alimento y del gasto de energía. Existen algunos circuitos en el hipotálamo que contribuyen a su papel en la integración del apetito, siendo la ruta de la melanocortina la mejor entendida. El circuito comienza con el núcleo arqueado, un área del hipotálamo que tiene salidas al hipotálamo lateral y al hipotálamo ventromedial, los centros de la alimentación y saciedad del cerebro, respectivamente.

El núcleo arqueado contiene dos grupos distintos de neuronas. El primer grupo expresa simultáneamente el neuropéptido Y (NPY) y un péptido relacionado con agutí (AgRP) y tiene entradas estimuladoras para el LH y entradas inhibitoras para el VMH. El segundo grupo expresa simultáneamente el transcrito regulado por pro-opiomelanocortina (POMC) y cocaína y anfetamina (CART) y tiene entradas estimuladoras para el VMH y entradas inhibitoras para el LH. Por consiguiente, las neuronas NPY/AgRP estimulan la alimentación e inhiben la saciedad, aunque las neuronas POMC/CART estimulan la saciedad e inhiben la alimentación. Ambos grupos de neuronas del núcleo arqueado están reguladas en parte por la leptina. La leptina inhibe el grupo NPY/AgRP estimulando a la vez el grupo POMC/CART. Por tanto, una deficiencia en la señalización de la leptina, debida tanto a deficiencia de leptina como a resistencia de leptina, conduce a una sobrealimentación. Esto puede explicar algunas formas genéticas y adquiridas de obesidad.

La dieta y el ejercicio físico son los pilares del tratamiento para la obesidad. Para complementar esto, o en caso de fallo, pueden tomarse fármacos antiobesidad para reducir el apetito o inhibir la absorción de grasa. En casos severos, se lleva a cabo cirugía, o se coloca un globo intragástrico para reducir el volumen del estómago y/o la longitud del intestino, conduciendo a una saciedad precoz y a una capacidad reducida de absorber nutrientes a partir de alimentos. Mantener esta pérdida de peso es frecuentemente difícil y requiere a menudo hacer ejercicio y una dieta con alimentos

de poca energía como parte permanente del estilo de vida de una persona. Las tasas de éxito del mantenimiento de pérdida de peso a largo plazo con cambios en el estilo de vida son bajas, oscilando entre 2-20 %.

5 Están disponibles un número limitado de medicaciones para el tratamiento de la obesidad. Los riesgos acerca de los efectos secundarios han disminuido el entusiasmo hacia los fármacos supresores del apetito, particularmente fenfluramina, sibutramina, y fentermina, que conllevan graves riesgos y se han retirado del mercado. Fentermina se ha homologado solo para su uso a corto plazo. Orlistat (Xenical®) es una medicación que bloquea la absorción de grasa de la dieta y está homologada también para el uso a más largo plazo. Sin embargo, produce efectos secundarios desagradables (deposiciones grasosas) y requiere un suplemento de vitaminas solubles en grasa.

10 Aunque la cirugía (tal como la derivación gástrica) es el último recurso para el tratamiento de la obesidad, puede ser extremadamente eficaz. Sin embargo, debe llevarse a cabo en un centro quirúrgico experimentado, debido a que dichas operaciones pueden conllevar riesgos significativos, especialmente en el periodo postoperatorio. Las recomendaciones de consenso son limitar los tratamientos quirúrgicos a pacientes con obesidad mórbida (IMC > 40, IMC > 35 más comorbilidades, o IMC > 30 con diabetes incontrolable).

15 En las farmacias locales hay disponibles varias píldoras para la pérdida de peso, supermercados o tiendas de alimentos saludables. Hay incluso más opciones disponibles en línea. La mayoría no se ha demostrado eficaz, y algunas pueden ser francamente peligrosas. La Tabla 1 (siguiente) muestra píldoras comunes para la pérdida de peso y los que la investigación muestra acerca de su eficacia y seguridad.

20 Los extractos vegetales son a menudo impuros y contienen por tanto muchas sustancias diferentes, es difícil evaluar si la mezcla de forma completa es eficaz, mucho menos, lo que constituye una dosis eficaz. Con cientos o más compuestos diferentes en la mezcla, podría ser más de un compuesto el requerido para la actividad, o un compuesto inhibidor de la actividad de otro compuesto, por tanto, la fuente y el procesamiento del material de la fuente original pueden dar como resultado un producto inactivo o incluso peligroso.

Tabla 1: Productos anecdóticos para la pérdida de peso. Fuentes: U.S. Food and Drug Administration, 2010; Base de datos comprehensiva de medicinas naturales, 2010

Producto	Reivindicación	Eficacia	Seguridad
Alli® - versión de venta libre (OTC) del medicamento recetado orlistat (Xenical®)	Disminuye la absorción de grasa de la dieta	Eficacia; cantidades de pérdidas de peso típicamente inferiores al medicamento de venta libre para el medicamento de venta libre frente al recetado.	informes de investigación de la FDA de lesiones hepáticas
Naranja amarga	Aumenta las quemaduras	caloríasEvidencia fiable insuficiente para calificar	Posiblemente inseguro
Quitosano	Bloquea la absorción de grasa de la dieta	Evidencia fiable insuficiente para calificar	Posiblemente seguro
Cromo	Aumenta las quemaduras, disminuye el apetito y desarrolla los músculos	caloríasEvidencia fiable insuficiente para calificar	Probablemente seguro
Conjugado de ácido linoleico (CLA)	Reduce la grasa corporal y desarrolla los músculos	Posiblemente eficaz	Posiblemente seguro
Malva campestre (hoja acorazonada)	Disminuye el apetito y aumenta las quemaduras	Evidencia fiable insuficiente para calificar	Probablemente inseguro y prohibido por la FDA
Efedra	Disminuye el apetito	Posiblemente eficaz	Probablemente inseguro y prohibido por la FDA
Extracto de té verde	aumenta el metabolismo de las calorías y la grasa y disminuye el apetito	Evidencia fiable insuficiente para calificar	Posiblemente seguro

(continuación)

Producto	Reivindicación	Eficacia	Seguridad
Goma guar	Bloquea la absorción de la grasa de la dieta y aumenta la sensación de saciedad	Posiblemente ineficaz	Probablemente seguro
Hoodia	Disminuye el apetito	Evidencia fiable insuficiente para calificar	Información insuficiente

El documento WO 2014/052583 desvela composiciones farmacéuticas que comprenden celastrol o derivados del mismo, para su uso en inducir la pérdida de peso, reducir la grasa corporal, evitar un aumento en el índice de masa corporal (IMC), o mejorar la homeostasia de la glucosa, en un paciente preobeso, obeso y con obesidad mórbida.

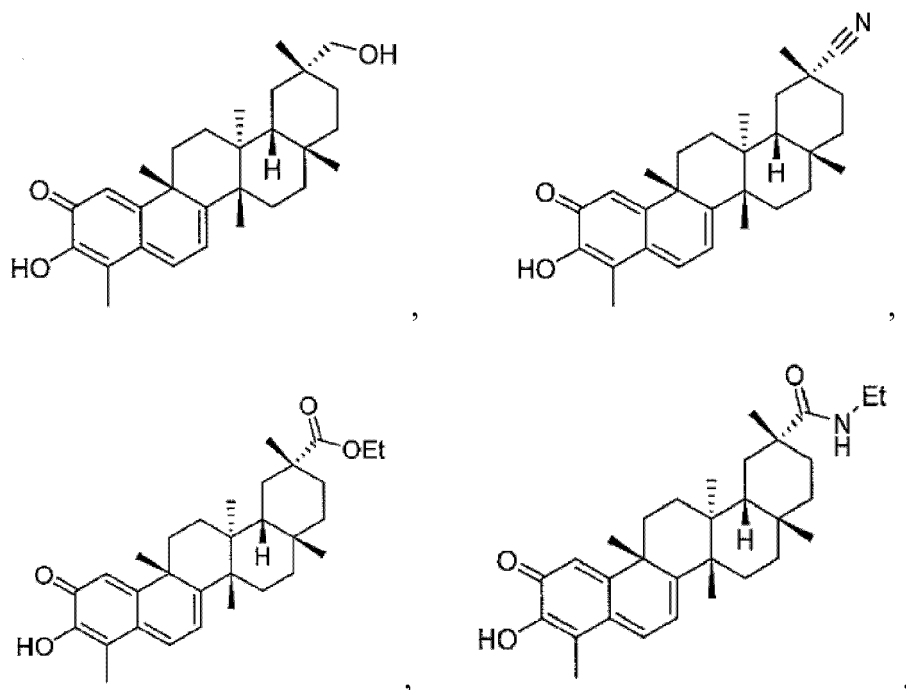
5 El documento WO 2013/177535 y Eur. J. Pharmacol. 2014, 744, 52 desvelan, cada uno ellos, el uso de celastrol o derivados del mismo, para su uso en el tratamiento de la obesidad.

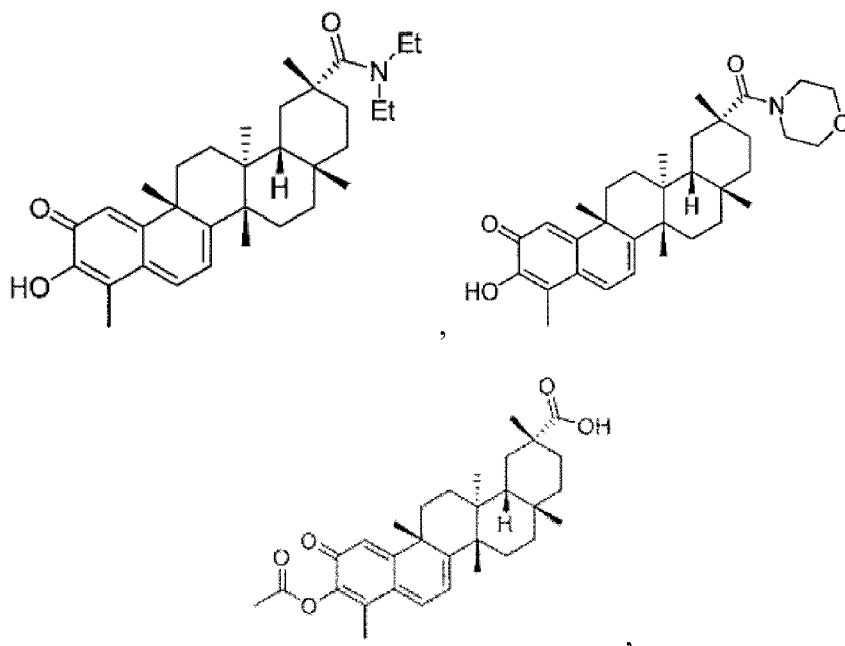
Es por tanto un objeto de la presente invención proporcionar compuestos seguros, bien caracterizados y eficaces para realizar la pérdida de peso, y procedimientos de uso de los mismo.

Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar una forma de dosificación oral para la promover la pérdida de peso, y los procedimientos de uso de los mismos.

10 Sumario de la invención

La presente invención proporciona una formulación farmacéutica para su uso en inducir la pérdida de peso o reducir la grasa corporal, o una combinación de las mismas, en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, en la que la formulación farmacéutica comprende un compuesto que tiene la siguiente estructura:





o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se proporcionan formulaciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Las formulaciones farmacéuticas pueden ser para su administración para inducir la pérdida de peso en un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida, reducir la grasa corporal en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, reducir la ingesta de alimento en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, mejorar la homeostasia de la glucosa en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, o combinaciones de los mismos.

En realizaciones particulares, el compuesto se administra simultáneamente con leptina o un análogo de leptina, tal como r-metHuLeptina (A-100, METRELEPTIN®), disponible de Amylin Pharmaceuticals (San Diego, Calif.).

En algunos casos, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos se administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para inducir la pérdida de peso, preferentemente en una cantidad y tiempo de administración terapéuticamente eficaz para disminuir la masa corporal o la grasa corporal en al menos un 10 %, más preferentemente en al menos un 15 %, lo más preferentemente en al menos un 20 %, o más.

En algunos casos, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos se administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para reducir la ingesta de alimento, el apetito, o combinaciones de los mismos, preferentemente en una cantidad terapéuticamente eficaz para reducir la ingesta de alimento diaria promedio (en términos de calorías) en al menos un 15 %, más preferentemente en al menos un 25 %, lo más preferentemente en al menos un 35 %, o más.

En algunos casos, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos se administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para mejorar la homeostasia de la glucosa, preferentemente en una cantidad terapéuticamente eficaz para reducir el promedio de glucosa en plasma sanguíneo en ayunas en al menos un 10 %, más preferentemente en al menos un 15 %, lo más preferentemente en al menos un 20 %, o más. En casos donde las formulaciones farmacéuticas se administran para normalizar el azúcar en sangre, las formulaciones farmacéuticas se administran preferentemente en una cantidad eficaz para disminuir los niveles de glucosa en sangre a menos de aproximadamente 180 mg/dl. Las formulaciones pueden administrarse simultáneamente con otros tratamientos antidiabéticos, si es necesario, para mejorar la homeostasia de la glucosa.

Breve descripción de los dibujos

Las Figuras de referencia 1A-D ilustran el efecto del celastrol, administrado por vía intraperitoneal (i.p.), sobre la ingesta de alimento, peso corporal y niveles de glucosa en sangre en ratones obesos alimentados con una dieta rica en grasa (dieta HFD). La Figura 1A es un gráfico que representa el peso corporal en ratones obesos alimentados con dieta HFD (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol a diferentes dosis (control con vehículo (traza con rombos), 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de círculos), 50 µg/kg de celastrol por

i.p. una vez al día (traza de triángulos), y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 1A es un gráfico que representa la disminución porcentual del peso corporal en ratones obesos alimentados con dieta HFD (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol a diferentes dosis (control con vehículo (traza con rombos), 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de círculos), 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de triángulos), y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 1C es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones obesos alimentados con dieta HFD durante el tratamiento con celastrol a diferentes dosis (de izquierda a derecha, control con vehículo, 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 1D es un gráfico de barras que ilustra el nivel de glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno (en mg/dl) de ratones obesos alimentados con dieta HFD al finalizar las dos semanas de tratamiento con celastrol a diferentes dosis (de izquierda a derecha, control con vehículo, 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). En todos los casos, n=5 ratones por grupo. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 mediante el test de la t de Student. Los resultados se basan en los datos diarios de ingesta de alimento tomados durante los primeros tres días.

Las Figuras de referencia 2A-2C ilustran el efecto del celastrol, administrado por vía intraperitoneal (i.p.), sobre la ingesta de alimento, peso corporal y niveles de glucosa en sangre de ratones magros. La Figura 2A es un gráfico que representa el peso corporal en ratones magros (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol a diferentes dosis (control con vehículo (traza con rombos), 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de círculos), 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de triángulos), y 500 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 2B es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones magros durante el tratamiento con celastrol a diferentes dosis (de izquierda a derecha, control con vehículo, 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, y 500 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 2C es un gráfico de barras que ilustra el nivel de glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno (en mg/dl) de ratones magros al finalizar las dos semanas de tratamiento con celastrol a diferentes dosis (de izquierda a derecha, control con vehículo, 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). En todos los casos, n=5 ratones por grupo. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 mediante el test de la t de Student.

Las Figuras de referencia 3A-3C ilustran el efecto del celastrol, administrado por vía intraperitoneal (i.p.), sobre la ingesta de alimento, peso corporal y niveles de glucosa en sangre de ratones deficientes en leptina (*ob/ob*). La Figura 3A es un gráfico que representa el peso corporal en ratones *ob/ob* (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con rombos), 100 µg/kg de celastrol en 25 µl DMSO por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 3B es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones *ob/ob* durante el tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 3C es un gráfico de barras que ilustra el nivel de glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno (en mg/dl) ratones *ob/ob* al finalizar las dos semanas de tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). En todos los casos, n=5 ratones por grupo. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 mediante el test de la t de Student. NS = no significativo.

Las Figuras de referencia 4A-4C ilustran el efecto del celastrol, administrado por vía intraperitoneal (i.p.), sobre la ingesta de alimento, peso corporal y niveles de glucosa en sangre de ratones deficientes en el receptor de leptina (*db/db*). La Figura 4A es un gráfico que representa el peso corporal en ratones *db/db* (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con rombos), 100 µg/kg de celastrol en 25 µl DMSO por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 4B es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones *db/db* durante el tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 4C es un gráfico de barras que ilustra el nivel de glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno (en mg/dl) ratones *db/db* al finalizar las dos semanas de tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). En todos los casos, n=5 ratones por grupo.

Las Figuras de referencia 5A-5F ilustran el efecto del celastrol, administrado por vía oral, sobre la ingesta de alimento, peso corporal, y niveles de glucosa en sangre de ratones obesos alimentados con dieta HFD. La Figura 5A es un gráfico que representa el peso corporal en ratones obesos alimentados con dieta HFD (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con rombos), 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 5B es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones obesos alimentados con dieta HFD durante el tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día). La Figura 5C es un gráfico de barras que ilustra el nivel de glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno (en mg/dl) de ratones obesos alimentados con dieta HFD al finalizar las dos semanas de tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día). La Figura 5D es un gráfico que representa el peso corporal en ratones magros (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con rombos), 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 5E es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones magros durante el tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día). La Figura 5F es un gráfico de barras que ilustra el nivel de glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno (en mg/dl) ratones magros al finalizar las dos semanas de tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 10 mg/kg de

celastrol por vía oral una vez al día). En todos los casos, n=5 ratones por grupo. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 mediante el test de la t de Student.

Las Figuras de referencia 6A-6D ilustran el efecto del celastrol, administrado por vía oral, sobre la ingesta de alimento, peso corporal, y niveles de glucosa en sangre de ratones *ob/ob* y *db/db*. La Figura 6A es un gráfico que representa el peso corporal en ratones *ob/ob* (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con triángulos), 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 6B es un gráfico que representa el peso corporal en ratones *db/db* (en gramos) en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con triángulos), 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 6C es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones *ob/ob* durante el tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día). La Figura 6D es un gráfico de barras que ilustra la ingesta de alimento (en gramos/día) de ratones *db/db* al finalizar las dos semanas de tratamiento con celastrol (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, 10 mg/kg de celastrol por vía oral una vez al día).

Las Figuras de referencia 7A-7D ilustran el efecto de leptina y celastrol administrados simultáneamente sobre el peso corporal y la ingesta de alimento en ratones. La Figura 7A es un gráfico que representa la ingesta de alimento acumulada en ratones obesos alimentados con dieta HFD (en gramos) en función del tiempo (horas) tras el tratamiento con celastrol en solitario, leptina en solitario, y celastrol y leptina en combinación (control con vehículo (DMSO+suero salino, traza con rombos), leptina en solitario (traza de cuadrados), celastrol en solitario (traza de triángulos), y tanto celastrol como leptina (traza con cruces (-x-))). La Figura 7B es un gráfico de barras que muestra la disminución porcentual en la ingesta de alimento tanto de ratones magros como alimentados con dieta HFD 6 horas después de la inyección de leptina (de izquierda a derecha, ratones magros sin celastrol, ratones magros con celastrol, ratones obesos alimentados con dieta HFD sin celastrol, y ratones alimentados con HFD sin celastrol). La Figura 7C es un gráfico que representa la ingesta de alimento acumulada en ratones magros (en gramos) en función del tiempo (horas) tras el tratamiento con celastrol en solitario, leptina en solitario, y celastrol y leptina en combinación (control con vehículo (DMSO+suero salino, traza con rombos), leptina en solitario (traza de cuadrados), celastrol en solitario (traza de triángulos), y tanto celastrol como leptina (traza con cruces (-x-))). La Figura 7D es un gráfico de barras que representa el cambio en el peso corporal (en gramos) durante un periodo de 24 horas tanto en ratones magros como ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol en solitario, leptina en solitario, y celastrol y leptina en combinación (de izquierda a derecha, ratones magros con control con vehículo (DMSO+suero salino), ratones magros con leptina en solitario, ratones magros con celastrol en solitario, ratones magros tratados tanto con celastrol como con leptina, ratones obesos alimentados con dieta HFD con control con vehículo (DMSO+suero salino), ratones obesos alimentados con dieta HFD y leptina en solitario, ratones obesos alimentados con dieta HFD y celastrol en solitario, ratones obesos alimentados con dieta HFD tratados tanto con celastrol como con leptina). En todos los casos, n=3 ratones por grupo.

Las Figuras de referencia 8A-8D ilustran la capacidad del celastrol para disminuir selectivamente la masa grasa (es decir, grasa corporal) de ratones con dieta HFD. La Figura 8A es un gráfico de barras que ilustra la masa magra (en gramos) de ratones obesos alimentados con dieta HFD según se mide usando absorciometría de rayos X de emisión doble (DEXA) después de dos semanas de tratamiento con celastrol a diferentes dosis (de izquierda a derecha, control con vehículo, 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 8B es un gráfico de barras que ilustra la masa grasa (en gramos) de ratones obesos alimentados con dieta HFD según se mide con DEXA después de dos semanas de tratamiento con celastrol a diferentes dosis (de izquierda a derecha, control con vehículo, 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 8C es un gráfico de barras que ilustra el porcentaje de grasa corporal de ratones obesos alimentados con dieta HFD según se mide con DEXA después de dos semanas de tratamiento con celastrol a diferentes dosis (de izquierda a derecha, control con vehículo, 10 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, 50 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día, y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 8D es un gráfico que representa el nivel de leptina en plasma (en ng/ml) medido usando un kit ELISA específico de leptina en función del tiempo (días) de tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con rombos), 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)).

Las Figuras de referencia 9A-9D ilustran el efecto del celastrol sobre la homeostasia de glucosa en ratones obesos alimentados con dieta HFD. La Figura 9A es un gráfico que representa los niveles de glucosa en plasma sanguíneo en ratones alimentados con HFD sometidos a un ensayo de tolerancia a la glucosa (GTT) en el día 7 en función del tiempo (minutos) después de la inyección de D-glucosa (control con vehículo (traza con rombos), 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 9B es un gráfico de barras que representa el área bajo la curva (ABC, en min mg/dl) para las trazas de la Figura 9A tanto para el control con vehículo (barra izquierda) como para celastrol (100 µg/kg de celastrol, barra derecha). La Figura 9C es un gráfico que representa los niveles de glucosa en plasma sanguíneo en ratones alimentados con HFD sometidos a un ensayo de tolerancia de insulina (ITT) en el día 7 en función del tiempo (minutos) después de la inyección de insulina (control con vehículo (traza con rombos), 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La Figura 9D es un gráfico de barras que representa el área bajo la curva (ABC, en min mg/dl) para las trazas de la Figura 9C tanto para el control con vehículo (barra izquierda) como para celastrol (100 µg/kg de celastrol, barra derecha). En todos los casos, n=5 ratones por grupo. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 mediante el test de la t de Student.

Las Figuras de referencia 10A-10C ilustran el efecto de la administración de celastrol sobre la expresión del ARNm hepático de enzimas gluconeogénicas en ratones obesos alimentados con dieta HFD, tal como se determina por PCR cuantitativa al final de las 3 semanas de administración i.p. de celastrol (100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 10A es un gráfico de barras que ilustra el nivel de expresión del ARNm hepático de glucosa 6-fosfatasa (G6pasa, en unidades arbitrarias) en ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol durante tres semanas (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, administración de celastrol). La Figura 10B es un gráfico de barras que ilustra el nivel de expresión del ARNm hepático de fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK, en unidades arbitrarias) en ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol durante tres semanas (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, administración de celastrol). La Figura 10C es un gráfico de barras que ilustra el nivel de expresión del ARNm hepático del coactivador 1-alfa del receptor gamma activado por el peroxisoma (PGC1 α , en unidades arbitrarias) en ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol durante tres semanas (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, administración de celastrol).

Las Figuras de referencia 11A-11B ilustran el efecto de la administración de celastrol sobre los niveles séricos de alanina transaminasa (ALT) y aspartato transaminasa (AST) en ratones obesos alimentados con dieta HFD, determinados mediante ELISA, al final de las 3 semanas de administración i.p. de celastrol (100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 11A es un gráfico de barras que representa el nivel sérico de ALT (U/l) en ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol durante tres semanas (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, administración de celastrol). La Figura 11B es un gráfico de barras que representa el nivel sérico de AST (U/l) en ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol durante tres semanas (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, administración de celastrol). En todos los casos, n=5 ratones por grupo. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 mediante el test de la t de Student.

Las Figuras de referencia 12A-12B ilustran el efecto de la administración de celastrol sobre los niveles séricos de las hormonas tiroideas triyodotironina (T3) y tiroxina (T4) en ratones obesos alimentados con dieta HFD al final de las 3 semanas de administración i.p. de celastrol (100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día). La Figura 12A es un gráfico de barras que representa el nivel sérico de T3 (ng/ ml) en ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol durante tres semanas (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, administración de celastrol). La Figura 12B es un gráfico de barras que representa el nivel sérico de T4 (ng/ ml) en ratones obesos alimentados con dieta HFD después del tratamiento con celastrol durante tres semanas (barra izquierda, control con vehículo; barra derecha, administración de celastrol). En todos los casos, n=5 ratones por grupo. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 mediante el test de la t de Student.

La Figura de referencia 13 es un gráfico que representa el peso corporal/peso corporal inicial de ratones obesos alimentados con dieta HFD en función del tiempo (días) para el tratamiento con cuatro derivados de celastrol diferentes administrados a una dosis de 100 µg/kg por i.p. una vez al día (mCSI (traza con rombos), mCS2 (traza de cuadrados), mCS3 (traza de triángulos) y mCS4 (traza de cruces)).

La Figura de referencia 14 es un gráfico que representa el peso corporal en ratones obesos alimentados con dieta HFD en función del tiempo (días) para el tratamiento con celastrol (control con vehículo (traza con rombos), 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados)). La leptina se administró simultáneamente, desde el día 17 del tratamiento con celastrol, en dosis crecientes (1 mg/kg, 2 mg/kg y 4 mg/kg), como se ilustra en la barra incluida encima de eje x de la gráfica.

La Figura de referencia 15 es un gráfico que representa el peso corporal promedio (en gramos) de cuatro ratones C57BL/6 (ratones que recibieron pienso regular y control con vehículo (traza con rombos), ratones que recibieron pienso regular y 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cuadrados), ratones con dieta HFD que recibieron control con vehículo (traza de triángulos), y ratones con dieta HFD que recibieron 100 µg/kg de celastrol por i.p. una vez al día (traza de cruces)) en función del tiempo (días) de tratamiento. Los ratones con dieta HFD que recibieron el control con vehículo desarrollaron obesidad, mientras que el resto de grupos de ratones no lo hicieron.

Las Figuras de referencia 16A y 16B son gráficos que muestran el movimiento deambulatorio en dirección x (Figura 16A) e y (Figura 16B) para el control y el celastrol en ciclos de luz y oscuridad. La toxicidad se evaluó usando el sistema de seguimiento Columbus Instruments Comprehensive Lab Animal, donde los autores midieron la actividad locomotora de los animales. Como se observa en las figuras, el movimiento deambulatorio en dirección x e y contados para los animales durante los ciclos tanto de luz como de oscuridad no son significativamente diferentes. Esto muestra que los ratones tratados con fármaco no están letárgicos, por tanto, no muestran ningún signo visible de enfermedad y toxicidad.

Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

"Análogo" y "Derivado", se usan en el presente documento de manera indistinta, y se refieren a un compuesto que posee el mismo núcleo pentacíclico que un compuesto precursor, pero difiere del compuesto precursor en el orden del enlace, en ausencia o presencia de uno o más átomos y/o grupos de átomos, y combinaciones de los mismos.

El derivado puede diferir del compuesto precursor, por ejemplo, en uno o más sustituyentes presentes en el núcleo pentacíclico, que puede incluir uno o más átomos, grupos funcionales, o subestructuras. El derivado puede diferir también del compuesto precursor en el orden del enlace entre átomos en el núcleo pentacíclico. En general, un derivado puede imaginarse para formarse, al menos en teoría, a partir del compuesto precursor mediante procedimientos químicos y/o físicos. Por ejemplo, los derivados de celastrol incluyen compuestos que poseen uno o más sustituyentes prefijados al núcleo de celastrol pentacíclico.

"Coadministración", como se usa en el presente documento, incluye la administración simultánea y secuencial. El médico a cargo del tratamiento puede seleccionar un curso de tiempo adecuado para la administración secuencial, de acuerdo con tales factores como la naturaleza de la enfermedad del paciente, y la dolencia del paciente.

"Farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del ámbito del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otros problemas o complicaciones compatibles con una proporción razonable de riesgo/beneficio.

"Profármaco", como se usa en el presente documento, significa un derivado de un compuesto de presente documento que se puede hidrolizar, oxidar o reaccionar de otra forma en condiciones biológicas (*in vitro* o *in vivo*) para proporcionar un compuesto de la invención. Los profármacos solamente se pueden volver activos tras dichas reacciones en condiciones biológicas, o bien pueden tener actividad en sus formas sin reaccionar (por ejemplo, los compuestos de la invención pueden ser profármacos de celastrol). Los ejemplos de profármacos de celastrol considerados en la presente invención incluyen, aunque no de forma limitativa, análogos o derivados de compuestos descritos en el presente documento que comprenden restos biohidrolizables tales como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureidas biohidrolizables y análogos de fosfatos biohidrolizables. Otros ejemplos de profármacos incluyen derivados de compuestos de una cualquiera de las fórmulas desveladas en el presente documento que comprenden restos -NO, -NO₂, -ONO, -ONO₂. Los profármacos se pueden preparar típicamente usando procedimientos bien conocidos, tales como los descritos en Burger's Medicinal Chemistry y Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5ª ed).

"Contraión", como se usa en el presente documento, se refiere a una partícula iónica tanto catiónica como aniónica que está presente para equilibrar la carga de una molécula o átomo correspondiente que tiene carga opuesta. Los ejemplos de contraiones catiónicos incluyen iones de metal alcalino tales como magnesio monoatómico, sodio, calcio o potasio.

"Alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere al radical de grupos alifáticos saturados o insaturados, incluidos grupos alquilo, alquenilo o alquinilo de cadena lineal, grupos alquilo, alquenilo o alquinilo de cadena ramificada, grupos cicloalquilo, cicloalquenilo, o cicloalquinilo (alíclicos), grupos cicloalquilo, cicloalquenilo, o cicloalquinilo sustituidos con alquilo, y grupos alquilo, alquenilo, o alquinilo sustituidos con cicloalquilo. Salvo que se indique otra cosa, un alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada tiene 30 o menos átomos de carbono en su estructura principal (por ejemplo, C₁-C₃₀ para la cadena lineal, C₃-C₃₀ para la cadena ramificada), más preferentemente 20 o menos átomos de carbono, más preferentemente 12 o menos átomos de carbono y lo más preferentemente 8 o menos átomos de carbono. Igualmente, los cicloalquilos preferidos tienen de 3-10 átomos de carbono en su estructura de anillo, y más preferentemente tienen 5, 6 o 7 carbonos en la estructura del anillo. Los intervalos proporcionados anteriormente son inclusivos de todos los valores entre el valor mínimo y el valor máximo.

El término "alquilo" incluye "alquilos no sustituidos" y "alquilos sustituidos", el último de los cuales se refiere a restos de alquilo que tienen uno o más sustituyentes que sustituyen un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura principal del hidrocarburo. Dichos sustituyentes incluyen, aunque no de forma limitativa, halógeno, hidroxilo, carbonilo (tal como carboxilo, alcóxicarbonilo, formilo, o un acilo), tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato, o un tioformiato), alcóxilo, fosforilo, fosfato, fosfonato, un fosfinato, amino, imino, amidina, imina, ciano, nitro, azido, sulfhidrilo, alquiltio, sulfato, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, sulfonilo, heterociclilo, aralquilo, o un resto aromático o heteroaromático.

Salvo que el número de átomos de carbono se especifique de otra forma, "alquilo inferior" como se usa en el presente documento significa un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, pero que tiene de uno a diez carbonos, más preferentemente de uno a seis átomos de carbono es su estructura principal. Igualmente, "alquenilo inferior" y "alquinilo inferior" tienen longitudes de cadena similares. Los grupos alquilo preferidos son alquilos inferiores. Los grupos alquilo pueden contener también uno o más heteroátomos en la estructura de carbono. Preferentemente, los heteroátomos incorporados en la estructura de carbono son oxígeno, nitrógeno, azufre, y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, el grupo alquilo contiene entre uno y cuatro heteroátomos. "Alquenilo" y "alquinilo", como se usa en el presente documento, se refieren a grupos alifáticos insaturados que contienen uno o más dobles o triples enlaces análogos en longitud (por ejemplo, C₂-C₃₀) y una posible sustitución en los grupos alquilo descritos anteriormente.

"Arilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo aromático de 5, 6 y 7 miembros. El anillo puede ser un sistema de anillo carbocíclico, heterocíclico, carbocíclico condensado, bicarbocíclico o biheterocíclico, opcionalmente sustituido por halógenos, grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo. Definido de forma amplia, "Ar", como se usa en el presente documento, incluye grupos aromáticos en un único anillo de 5, 6 y 7 miembros que pueden incluir desde cero a cuatro heteroátomos, por ejemplo, benceno, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares. Aquellos grupos arilo que tienen heteroátomos en la estructura del anillo pueden denominarse también "heteroarilo", "heterociclos de

arilo", o "compuestos heteroaromáticos". El anillo aromático puede estar sustituido, como se ha descrito anteriormente, en una o más posiciones del anillo con dichos sustituyentes, por ejemplo, halógeno, azida, alquilo, aralquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, hidroxilo, alcoilo, amino, nitro, sulfhidrido, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, sulfonamido, cetona, aldehído, éster, heterocíclico, restos aromáticos o heteroaromáticos, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$, o similares. El término "Ar" incluye también sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos (los anillos son "anillos fusionados") en el que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, cicloalquino, arilos y/o heterocíclicos. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, aunque no de forma limitativa, benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzoxazolinilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, benzoisoxazolilo, bencisotiazolilo, bencimidazolinilo, carbazolilo, 4*aH*-carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinnolinilo, decahidroquinolinilo, 2*H*,6*H*-1,5,2-ditiazinilo, dihidrofuro[2,3*b*]tetrahidrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1*H*-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, 3*H*-indolilo, isatinoilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, metilendioxfenilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxindolilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidonilo, 4-piperidonilo, piperonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2*H*-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4*H*-quinolizínilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrazolilo, 6*H*-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo y xantenilo.

"Alquilarilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo (por ejemplo, un grupo aromático o heteroaromático).

"Heterociclo" o "heterocíclico", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical cíclico mediante un carbono o nitrógeno del anillo de un anillo monocíclico o bicíclico que 3-10 átomos del anillo, y preferentemente de 5-6 átomos del anillo, que consisten en carbono y uno a cuatro heteroátomos seleccionados cada uno entre el grupo consistente en oxígeno no de peróxido, azufre, y N(Y) en el que Y está ausente o es H, O, alquilo (C_{1-4}), fenilo o bencilo, y que contiene opcionalmente uno o más dobles o triples enlaces, y sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes. El término "heterociclo" abarca también anillos de heteroarilo sustituidos y no sustituidos. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, aunque no de forma limitativa, benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzoxazolinilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, benzoisoxazolilo, bencisotiazolilo, bencimidazolinilo, carbazolilo, 4*aH*-carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinnolinilo, decahidroquinolinilo, 2*H*,6*H*-1,5,2-ditiazinilo, dihidrofuro[2,3-*b*]tetrahidrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1*H*-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, 3*H*-indolilo, isatinoilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, metilendioxfenilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolino, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxindolilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidonilo, 4-piperidonilo, piperonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2*H*-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4*H*-quinolizínilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrazolilo, 6*H*-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolinilo, tiofenilo y xantenilo.

"Heteroarilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo aromático monocíclico que contiene cinco o seis átomos del anillo consistente en carbono y 1, 2, 3, o 4 heteroátomos seleccionados cada uno entre el grupo que consiste en oxígeno no de peróxido, azufre, y N(Y) donde Y está ausente o es H, O, alquilo (C_{1-8}), fenilo o bencilo. Los ejemplos no limitantes de grupos heteroarilo incluyen furilo, imidazolilo, triazolilo, triazinilo, oxazoilo, isoxazoilo, tiazolilo, isotiazolilo, pirazolilo, pirrolilo, pirazinilo, tetrazolilo, piridilo, (o su N-óxido), tienilo, pirimidinilo (o su N-óxido), indolilo, isoquinolilo (o su N-óxido), quinolilo (o su N-óxido) y similares. El término "heteroarilo" puede incluir radicales de un heterociclo bicíclico ortocondensado de aproximadamente ocho a diez átomos del anillo derivados del mismo, particularmente un benzoderivado o un derivado mediante la condensación de un propileno, trimetileno, o un dirradical de tetrametileno del anterior. Los ejemplos de heteroarilo pueden ser furilo, imidazolilo, triazolilo, triazinilo, oxazoilo, isoxazoilo, tiazolilo, isotiazolilo, piraxolilo, pirrolilo, pirazinilo, tetrazolilo, piridilo (o su N-óxido), tienilo, pirimidinilo (o su N-óxido), indolilo, isoquinolilo (o su N-óxido), quinolilo (o su N-óxido), y similares.

"Halógeno", como se usa en el presente documento, se refiere a flúor, cloro, bromo, o yodo.

El término "sustituido" como se usa en el presente documento, se refiere a todos los sustituyentes permisibles de los compuestos descritos en el presente documento. en el sentido de uso habitual, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos, de compuestos orgánicos. Los sustituyentes ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, grupos halógenos, grupos hidroxilo, o cualesquiera otros agrupamientos orgánicos que contienen cualquier número de átomos de carbono, preferentemente 1-14 átomos de carbono, e incluyen opcionalmente uno o más heteroátomos tales como un agrupamiento de oxígeno, azufre o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados, o cíclicos. Los sustituyentes representativos incluyen alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo

sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido, amino, amino sustituido, amido, amido sustituido, sulfonilo, sulfonilo sustituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, C₃-C₂₀ cíclico, C₃₋₂₀ cíclico sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, aminoácido, péptido y grupos polipeptídicos.

Los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes hidrógeno y/o cualesquiera sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfacen las valencias de los heteroátomos. Se entiende que "sustitución" o "sustituido" incluye la condición implícita de que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución de como resultado un compuesto estable, es decir, un compuesto que no experimenta de forma espontánea transformación, tal como mediante redistribución, ciclación, eliminación, etc.

"Obeso" como se usa en el presente documento, se refiere a un paciente que tiene un índice de masa corporal de más de 30 kg/m². "Sobrepeso" y "Preobeso", como se usa en el presente documento, se refiere a pacientes que tienen un índice de masa corporal de más de 25 kg/m². "Obesidad mórbida", como se usa en el presente documento, se refiere a un paciente que tiene un índice de masa corporal de más de 40 kg/m², un índice de masa corporal de más de 35 kg/m² en combinación con una o más comorbilidades, un índice de masa corporal de más de 30 kg/m² en combinación con una diabetes incontrolable, o combinaciones de las mismas.

"Cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de un compuesto que es eficaz para inducir la pérdida de peso que es eficaz para inducir la pérdida de peso en un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida, reducir la grasa corporal en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, reducir la ingesta de alimento en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, mejorar la homeostasia de la glucosa en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, evitar el aumento de peso y/o prevenir un aumento en el índice de masa corporal en un paciente normal, paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida, o combinaciones de las mismas.

II. Compuestos

Se proporcionan en el presente documento triterpenos pentacíclicos que se pueden administrar para fomentar la pérdida de peso, reducir la grasa corporal, reducir la ingesta de alimento, mejorar la homeostasia de la glucosa, o combinaciones de las mismas de acuerdo con la reivindicación 1.

El compuesto presente en las formulaciones de la invención puede tener uno o más centros quirales y, de esta forma, puede existir como dos o más estereoisómeros únicos. El compuesto presente en la formulación de la invención también puede ser una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los compuestos anteriormente descritos. En algunos casos, puede ser deseable preparar la sal de un compuesto descrito anteriormente debido a una o más de las propiedades físicas ventajosas de la sal, tales como una estabilidad potenciada o una solubilidad o perfil de disolución deseables.

En general, las sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse mediante reacción de las formas libres de ácido o base de un compuesto descrito anteriormente con una cantidad estequiométrica de la base o el ácido adecuados en agua, en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En general, los medios no acuosos incluyen éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetronitrilo son los preferidos. Se pueden encontrar listas de las sales adecuadas en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, IVID, 2000, pág. 704; y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use", P. Heinrich Stahl y Camille G. Wermuth, Eds., Wiley-VCH, Weinheim, 2002.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos, tales como los ácidos clorhídrico, bromhídrico, fluorhídrico, bórico, fluorobórico, fosfórico, metafosfórico, nítrico, carbónico, sulfónico y sulfúrico, y ácidos orgánicos tales como los ácidos acético, bencenosulfónico, benzoico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glicólico, isotiónico, láctico, lactobiónico, maleico, málico, metanosulfónico, trifluorometanosulfónico, succínico, toluenosulfónico, tartárico y trifluoroacético.

Los ácidos orgánicos adecuados incluyen generalmente, por ejemplo, los ácidos orgánicos de tipo alifático, cicloalifático, aromático, aralifático, heterocíclico, carboxílico y sulfónico. Los ejemplos específicos de ácidos orgánicos adecuados habituales incluyen acetato, trifluoroacetato, formiato, propionato, succinato, glicolato, gluconato, digluconato, lactato, malato, ácido tartárico, citrato, ascorbato, glucuronato, maleato, fumarato, piruvato, aspartato, glutamato, benzoato, ácido antranílico, mesilato, estearato, salicilato, p-hidroxibenzoato, fenilacetato, mandelato, embonato (pamoato), metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, pantotenato, toluenosulfonato, 2-hidroxietanosulfonato, sufanilato, ciclohexilaminosulfonato, ácido algénico, ácido β-hidroxibutírico, galactarato, galacturonato, adipato, alginato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, glicohexanoato, glicerofosfato, heptanoato, hexanoato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, tiocianato, hasta silato y undecanoato.

En algunos casos, la sal farmacéuticamente aceptable puede incluir sales de metales alcalinos, incluidas sales de sodio o potasio; sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio o magnesio; y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, por ejemplo, sales de amonio cuaternario. Se pueden formar también sales de bases

a partir de bases que forman sales no tóxicas, incluidas sales de aluminio, arginina, benzatina, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, meglumina, olamina, trometamina y de cinc.

Las sales orgánicas se pueden preparar a partir de sales de amina secundaria, terciaria o cuaternaria, tales como trometamina, dietilamina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse también con agentes, tales como haluros de alquilo inferior (C₁-C₆) (por ejemplo, metilo, etilo, propilo y butilo, bromuros y yoduros), dialquil sulfatos (por ejemplo, sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo), haluros de cadena larga (por ejemplo, cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo), haluros de arilalquilo (por ejemplo, bromuros de bencilo y fenetilo) y otros.

El compuesto presente en las formulaciones de la presente divulgación también pueden ser un profármaco farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los compuestos anteriormente descritos. Los profármacos son compuestos que, cuando se metabolizan *in vivo*, experimentan la conversión a compuestos que tienen la actividad farmacológica deseada. Los profármacos pueden prepararse sustituyendo funcionalidades adecuadas presentes en los compuestos descritos anteriormente con "prorrestos" como se describe, por ejemplo, en H. Bundgaard, Design of Prodrugs (1985). Los ejemplos de profármacos incluyen derivados de ésteres, éteres o amidas de los compuestos descritos anteriormente, derivados de polietilenglicol de los compuestos descritos anteriormente, derivados de N-acil aminas, derivados de dihidropiridina piridina, derivados que contienen amino conjugados a polipéptidos, derivados de 2-hidroxibenzamida, derivados de carbamato, derivados de N-óxidos que se reducen biológicamente a las aminas activas, y derivados de bases de N-mannich. Para la discusión adicional de los profármacos, véase, por ejemplo, Rautio, J. y col. Nature Reviews Drug Discovery. 7:255-270 (2008).

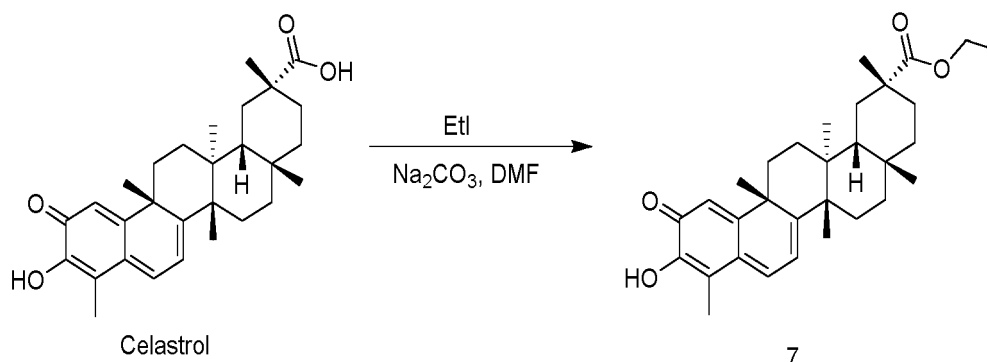
A. Procedimientos de preparación

Los compuestos anteriormente descritos se pueden preparar usando procedimientos conocidos en la materia. Las metodologías representativas para la preparación de determinados agentes activos se describen a continuación. La ruta de síntesis adecuada de un compuesto dado se puede seleccionar según la estructura del compuesto en su conjunto, ya que está relacionada con la compatibilidad compuesto grupos funcionales, estrategias de protección de grupos, y la presencia de enlaces lábiles. Además de las metodologías sintéticas anteriormente analizadas, las reacciones y estrategias alternativas útiles para la preparación de los compuestos de creatina desvelados en el presente documento son conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, March, "Advanced Organic Chemistry", 5ª edición, 2001, Wiley-Interscience Publication, Nueva York).

Celastrol se puede obtener de fuentes comerciales, o aislarse de plantas, por ejemplo, *Tripterygium wilfordii*, mediante procedimientos conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, Kutney, Can. J. Chem. 59:2677 (1981) y Zhang, W., y col., Acta Pharm. Sin. 21:592 (1986). Celastrol puede servir como materiales de partida cómodo para los compuestos de la invención.

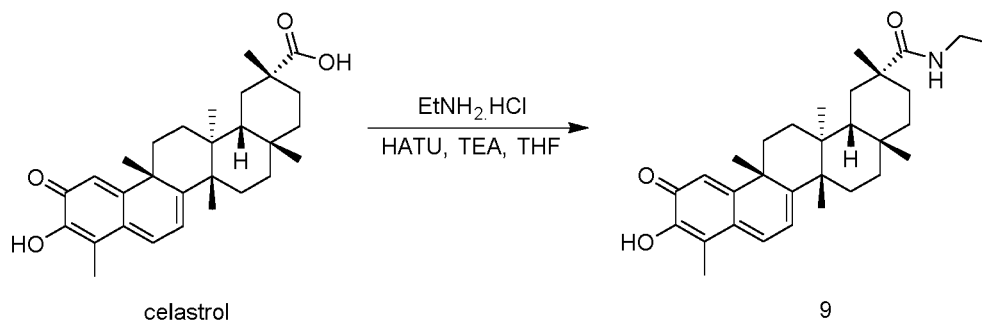
De forma ilustrativa, los compuestos de la invención que contienen una funcionalidad éster se pueden preparar haciendo reaccionar celastrol con un alcohol adecuado en presencia de un catalizador ácido o básico. Otros derivados de éster se pueden preparar análogamente usando los materiales de partida adecuados de tipo alcohol (ACS Chem. Biol. (2012) 7, 928-937). De manera similar, los compuestos de la invención que contienen una funcionalidad de amida se pueden preparar haciendo reaccionar celastrol con una amina adecuada en condiciones convencionales para formar enlaces de amida (por ejemplo, en presencia de un agente deshidratante de carbodiimida, tal como N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), N,N-Diisopropilcarbodiimida (DIC) o 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y una base, tal como DMAP o trietilamina).

Los procedimientos para producir el compuesto de ejemplo 7 pueden incluir hacer reaccionar celastrol con yoduro de etilo (EtI) (1,1 equivalentes) y carbonato de sodio (Na₂CO₃) (2 equivalentes) en dimetilformamida (DMF) (3 o 10 ml) a temperatura ambiente (TA), durante la noche, como se muestra a continuación.

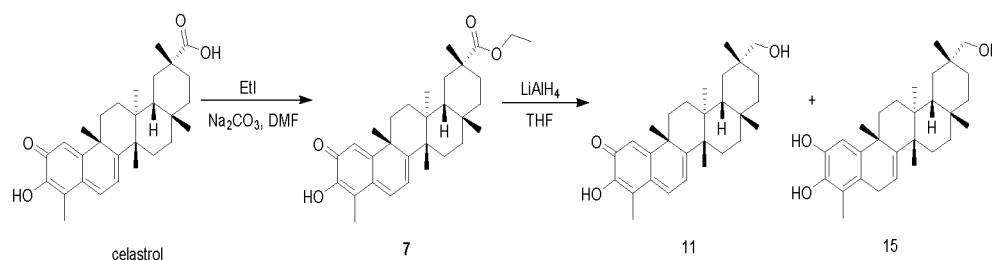


Los procedimientos para producir el compuesto de ejemplo 9 pueden incluir hacer reaccionar celastrol con etilamina (EtNH₂) (1,5 equivalentes), hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido

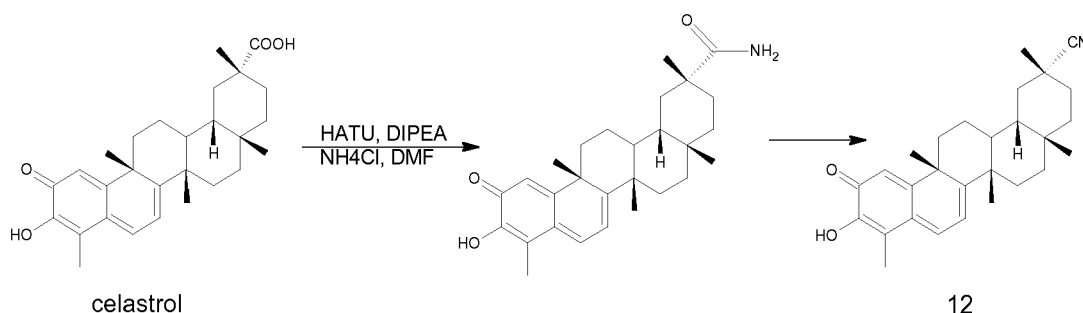
(HATU) (1,5 equivalentes), y trietilaluminio (TEA) (3 equivalentes) en tetrahidrofurano (THF) (6 ml) a temperatura ambiente, durante la noche, como se muestra a continuación.



- 5 Los procedimientos para producir el compuesto de ejemplo 11 pueden incluir reducir un compuesto de fórmula I con un éster en la posición R₁ para producir el R₁ hidroxilo. Por ejemplo, se puede usar el celastrol para producir el compuesto de ejemplo 7 como se ha descrito anteriormente. El compuesto de ejemplo 7 se puede hacer reaccionar con hidruro de aluminio y litio (LiAlH₄) (2 equivalentes) en tetrahidrofurano (THF) (3 ml) durante 4 horas a temperatura ambiente como se muestra a continuación. Los productos de la reacción incluyen los compuestos de ejemplo 11 y 15. El compuesto de ejemplo 25 también se puede producir de esta forma.



- 10 El compuesto de ejemplo 15 se puede reducir además para producir el compuesto de ejemplo 11. Las condiciones de reacción pueden incluir hacer reaccionar el compuesto de ejemplo 15 con 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (2 equivalentes) en DCM a temperatura ambiente durante la noche. Como alternativa, el compuesto de ejemplo 15 se puede hacer reaccionar con O₂ en acetona (15 ml) a temperatura ambiente durante 2 días para producir el compuesto 11. Como alternativa, el compuesto de ejemplo 15 se puede hacer reaccionar con Ag₂CO₃ (2 equivalentes) en DCM (2 ml) a temperatura ambiente durante la noche para producir el compuesto 11. Como alternativa, el compuesto de ejemplo 15 se puede hacer reaccionar con O₂ en metanol (15 ml) a temperatura ambiente durante 2 días para producir el compuesto 11. Como alternativa, el compuesto de ejemplo 15 se puede hacer reaccionar con O₂ en DCM (15 ml) a temperatura ambiente durante 2 días para producir el compuesto 11.
- 15
- 20 Los procedimientos para producir el compuesto de ejemplo 12 pueden incluir convertir un compuesto de Fórmula I con un grupo amida en la posición R₁ a un grupo ciano. Un material de partida ilustrativo para una reacción para producir el compuesto 12 puede ser un compuesto de Fórmula I con un grupo amida primaria en la posición R₁. Los procedimientos para producir el compuesto 12 pueden incluir hacer reaccionar celastrol con HATU (1,5 equivalentes), DIPEA (2 equivalentes) y NH₄Cl (2 equivalentes) en DMF (5 ml) a temperatura ambiente durante la noche como se muestra a continuación.
- 25

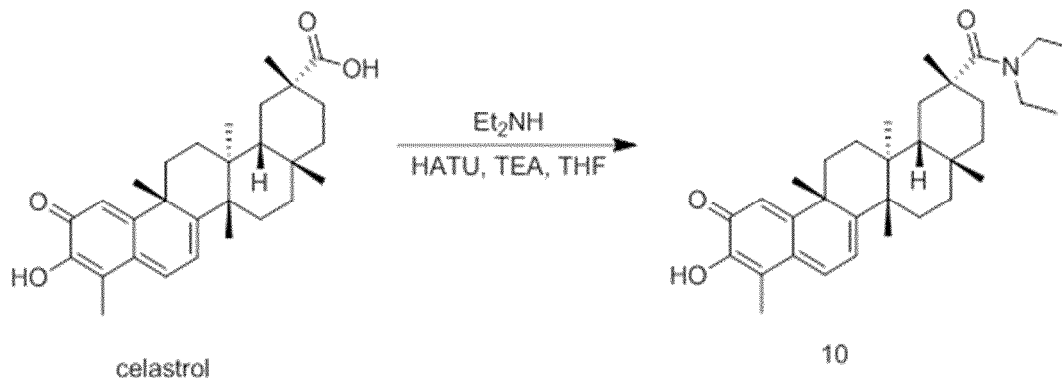


Como alternativa, celastrol se puede hacer reaccionar con difosgeno (2 equivalentes) y TEA (2 equivalentes) en DCM.

Los procedimientos para producir el compuesto de ejemplo 13 pueden incluir hacer reaccionar el compuesto de

ejemplo 12 con trimetilsilil azida (TMS-N₃).

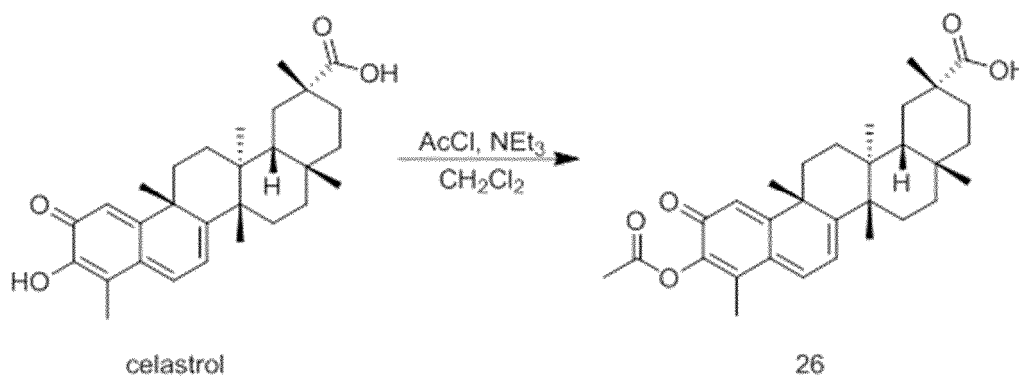
Los procedimientos para producir el compuesto de ejemplo 10 pueden incluir hacer reaccionar celastrol con una amina (1,5 equivalentes), HATU (1,5 equivalentes) y TEA (2 equivalentes) en THF (3 ml) a temperatura ambiente durante la noche como se muestra a continuación.



5

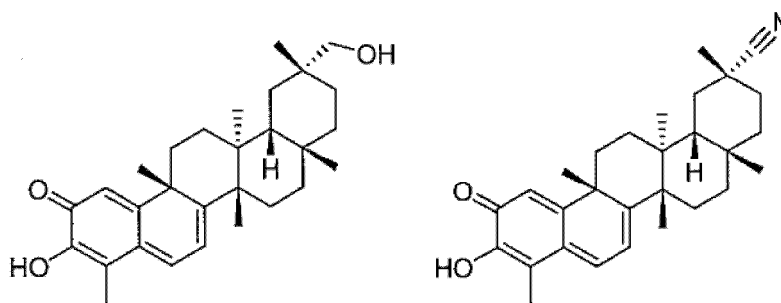
Los procedimientos alternativos para producir el compuesto de ejemplo 10 pueden incluir hacer reaccionar celastrol con una amina (1,5 equivalentes), HATU (2 equivalentes) y TEA (3 equivalentes) en THF (5 ml) a temperatura ambiente, durante la noche.

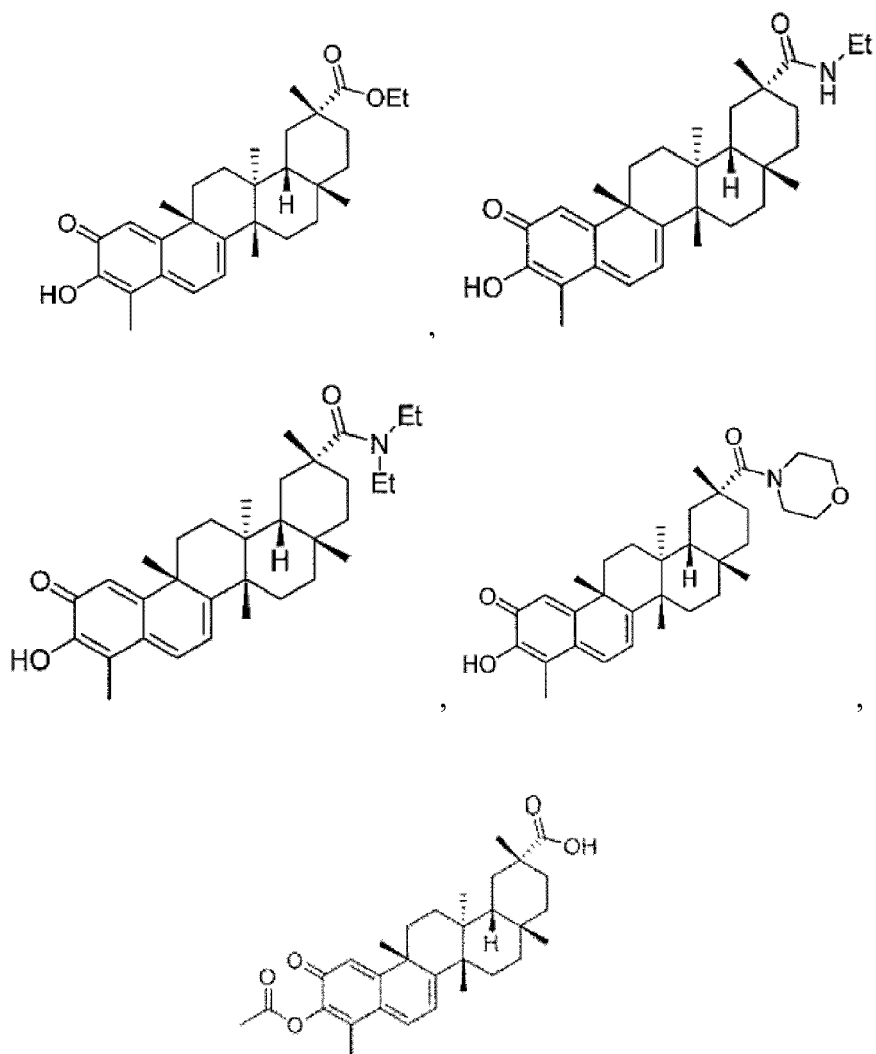
10 Los procedimientos para producir el compuesto 26 pueden incluir hacer reaccionar celastrol con AcCl (1.2 equivalentes) y NEt₃ (2 equivalentes) en CH₂Cl₂ (4 ml) a 0 °C durante 30 min como se muestra a continuación (véase, por ejemplo, Bioorg. Med. Chem. (2010) 20, 3844-3847).



III. Formulaciones farmacéuticas

15 Se proporcionan formulaciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene la siguiente estructura:





o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes representativos incluyen disolventes, diluyentes, agentes modificadores del pH, conservantes, antioxidantes, agentes de suspensión, agentes humectantes, modificadores de la viscosidad, agentes de tonicidad, agentes estabilizantes y combinaciones de los mismos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables se seleccionan preferentemente entre materiales que generalmente se reconocen como seguros (GRAS), y se pueden administrar a un individuo sin producir efectos biológicos secundarios indeseables o interacciones no deseadas.

A. Agentes terapéuticos adicionales

En algunos casos, la formulación farmacéutica puede contener además uno o más principios activos adicionales.

En ciertas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas contienen además una leptina, un análogo de leptina, o combinaciones de las mismas.

Una leptina es una hormona peptídica que sirve como la señal aferente en un bucle de retroalimentación negativa que regula la ingesta de alimento y el peso corporal *in vivo*. La leptina humana sin procesar se sintetiza *in vivo* en forma de una prohormona de 167 aminoácidos y 16 kDa. La leptina sin procesar incluye una secuencia señal de 21 aminoácidos en el extremo N que se escinde del resto del polipéptido para generar la leptina madura en circulación (que contiene 146 aminoácidos).

Los términos "leptina" y "análogo de leptina", como se usa en el presente documento, abarcan la leptina humana de origen natural, la leptinas de origen natural producida por una especie no humana, tal como un ratón o rata, la leptina madura producida de forma recombinante, tal como metreleptina (es decir, la leptina de metionilo recombinante humana, o r-metHuLeptina), que es una leptina de 147 aminoácidos generada mediante la adición diseñada por ingeniería genética en el extremo N de una metionina al aminoácido del extremo de la leptina humana madura en circulación de 146 aminoácidos), así como a fragmentos de leptina, variantes de leptina, proteínas de fusión de leptina, y otros derivados de la misma, conocidos en la técnica por tener actividad biológica.

Los análogos y derivados de leptina ilustrativos incluyen los descritos en las publicaciones de patente internacional con números WO 96/05309, WO 96/40912; WO 97/06816, WO 00/20872, WO 97/18833, WO 97/38014, WO 98/08512, WO 98/12224, WO 98/28427, WO 98/46257, WO 98/55139, WO 00/09165, WO 00/47741, WO 2004/039832, WO 97/02004 y WO 00/21574; las solicitudes de patente internacional con números PCT/US96/22308 y PCT/US96/01471; las patentes de Estados Unidos con números 5.521.283, 5.532.336, 5.552.524, 5.552.523, 5.552.522, 5.935.810, 6.001.968, 6.429.290, 6.350.730, 6.936.439, 6.420.339, 6.541.033, 7.112.659, 7.183.254, y 7.208.577, y las publicaciones de patente de Estados Unidos con números 2005/0176107, 2005/0163799. Las variantes de leptina ilustrativas incluyen aquellas donde el aminoácido en la posición 43 se ha sustituido con Asp o Glu; la posición 48 se ha sustituido con Ala; la posición 49 se ha sustituido con Glu, o está ausente; la posición 75 se ha sustituido con Ala; la posición 89 se ha sustituido con Leu; la posición 93 se ha sustituido con Asp o Glu; la posición 98 se ha sustituido con Ala; la posición 117 se ha sustituido con Ser, la posición 139 se ha sustituido con Leu, la posición 167 se ha sustituido con Ser, y cualquier combinación de las mismas.

En ciertas realizaciones, la formulación farmacéutica incluye r-metHuLeptin (A-100, METRELEPTIN®), disponible de Amylin Pharmaceuticals (San Diego, Calif.).

Las formulaciones farmacéuticas también pueden incluir una o más vitaminas, minerales, suplementos dietarios, agentes nutracéuticos, tales como proteínas, carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, antioxidantes, y extractos vegetales o animales, o combinaciones de los mismos. Las vitaminas, minerales, agentes nutracéuticos, y suplementos dietarios, son conocidos en la técnica, y se desvelan, por ejemplo, en Roberts y col., (Nutriceuticals: The Complete Encyclopedia of Supplements, Herbs, Vitamins, and Healing Foods, American Nutriceutical Association, 2001). Los agentes nutracéuticos y los suplementos dietarios también se desvelan en Physician's Desk Reference for Nutritional Supplements, 1ª Ed. (2001) y The Physicians' Desk Reference for Herbal Medicines, 1ª Ed. (2001).

B. Formulaciones entéricas

Las formas de dosificación orales adecuadas incluyen comprimidos, cápsulas, soluciones, suspensiones, jarabes, y pastillas para chupar. Los comprimidos se pueden fabricar usando técnicas de compresión o moldeado bien conocidas en la técnica. Las cápsulas de gelatina o no de gelatina se pueden preparar como cápsulas de envoltura dura o blanda, que pueden encapsular materiales líquidos, sólidos y semisólidos, usando técnicas bien conocidas en la materia.

Las formulaciones se pueden preparar usando uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, que incluyen diluyentes, conservantes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, agentes de hinchamiento, cargas, estabilizantes, y combinaciones de los mismos.

Los excipientes, incluidos plastificantes, pigmentos, colorantes, agentes estabilizantes y abrillantadores, también se pueden usar para formar composiciones revestidas para administración entérica. Las formulaciones para dosificación en liberación retardada se pueden preparar como se describe en las referencias convencionales tales como "Pharmaceutical dosage form tablets", eds. Liberman et. al. (Nueva York, Marcel Dekker, Inc., 1989), "Remington - The science and practice of pharmacy", 20ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000, y "Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems", 6ª Edición, Ansel y col., (Media, PA: Williams y Wilkins, 1995). Estas referencias proporcionar información acerca de los excipientes, materiales, equipo y procedimientos para preparar comprimidos y cápsulas y para las formas de dosificación de liberación retardada en comprimidos, cápsulas, y gránulos.

Los ejemplos de materiales de revestimiento adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, polímeros de celulosa tales como ftalato acetato de celulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, y acetato succinato de hidroxipropil metilcelulosa; acetato ftalato de polivinilo, polímeros y copolímeros de ácido acrílico, y resinas metacrílicas que están comercialmente disponibles con el nombre comercial de EUDRAGIT® (Roth Pharma, Westerstadt, Alemania), zeína, shellac, y polisacáridos.

Los diluyentes, también denominados como "cargas", suelen ser necesarios para aumentar el volumen de una forma de dosificación sólida de manera que se proporcione un tamaño práctico para la compresión de comprimidos o la formación de perlas y gránulos. Los diluyentes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, fosfato dicálcico dihidratado, sulfato de calcio, lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, celulosa microcristalina, caolín, cloruro sódico, almidón seco, almidones hidrolizados, almidón pregelatinizado, dióxido de silicio, óxido de titanio, silicato de aluminio y magnesio y azúcar en polvo.

Los aglutinantes se utilizan para transmitir cualidades cohesivas a una forma de dosificación sólida, y de esta forma garantizan que un comprimido o perla o gránulo permanece intacto tras la conformación de las formas de dosificación. Los materiales aglutinantes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, almidón, almidón pregelatinizado, gelatina, azúcares (que incluyen sacarosa, glucosa, dextrosa, lactosa y sorbitol), polietilenglicol, ceras, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, tragacanto, alginato de sodio, celulosa, que incluyen hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa, y veegum, y polímeros sintéticos tales como copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico)/poli(ácido metacrílico) y polivinilpirrolidona.

Los lubricantes se utilizan para facilitar la fabricación de comprimidos. Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen,

aunque no de forma limitativa, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, behenato de glicerol, polietilenglicol, talco, y aceite mineral.

Los disgregantes se utilizan para facilitar la disgregación o "rotura" de la forma de dosificación después de la administración, e incluyen por lo general, aunque no de forma limitativa, almidón, glicolato de almidón de sodio, carboximetil almidón sódico, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilcelulosa, almidón pregelatinizado, arcillas, celulosa, alginina, gomas o polímeros reticulados, tales como PVP reticulado (Polyplasdone® XL de GAF Chemical Corp).

Los estabilizantes se utilizan para inhibir o retrasar las reacciones de descomposición de fármacos que incluyen, a modo de ejemplo, reacciones oxidantes. Los estabilizantes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, antioxidantes, hidroxitolueno butilado (BHT); ácido ascórbico, sus sales y ésteres; vitamina E, tocoferol y sus sales; sulfitos tales como metabisulfito; cisteína y sus derivados; ácido cítrico; galato de propilo, e hidroxianisol butilado (BHA).

1. Formulaciones de liberación controlada

Las formas de dosificación orales, tales como cápsulas, comprimidos, soluciones y suspensiones, se pueden formular para liberación controlada. Por ejemplo, el uno o más compuestos y el uno o más principios activos adicionales se pueden formular como nanopartículas, micropartículas, y combinaciones de las mismas, y encapsularse en cápsulas de gelatina o no gelatina blandas o duras o bien dispersarse en un medio de dispersión para formar una suspensión oral o un jarabe. Las partículas se pueden formar con el fármaco y una matriz polimérica de liberación controlada. Como alternativa, las partículas de fármaco se pueden revestir con uno o más revestimientos de liberación controlada antes de su incorporación a la forma de dosificación terminada.

En otra realización, el uno o más compuestos y el uno o más principios activos adicionales se dispersan en un material de matriz, que gelifica o se emulsiona tras entrar en contacto con un medio acuoso, tal como los fluidos fisiológicos. En el caso de los geles, la matriz se hincha, atrapando los principios activos, que se liberan lentamente con el tiempo por difusión y/o degradación del material de la matriz. Dichas matrices se pueden formular como comprimidos o como materiales de relleno para cápsulas duras y blandas.

En otra realización adicional más, el uno o más compuestos y el uno o más principios activos adicionales se formulan en una forma de dosificación oral comercializada, tal como un comprimido o cápsula, y la forma de dosificación sólida se reviste con uno o más revestimientos de liberación controlada, tales como revestimientos de liberación retardada o revestimientos de liberación prolongada. El revestimiento o revestimientos también pueden contener los compuestos y/o principios activos adicionales.

Formulaciones de liberación prolongada

Las formulaciones de liberación prolongada se preparan de forma general como sistemas de difusión o sistemas osmóticos, por ejemplo, como se describe en "Remington - The science and practice of pharmacy" (20ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000). Un sistema de difusión consiste de forma típica en dos tipos de dispositivos, un depósito y una matriz, y es bien conocido y está descrito en la técnica. Los dispositivos de matriz generalmente se preparan comprimiendo el fármaco con un transportador polimérico de disolución lenta para formar un comprimido. Los tres tipos principales de materiales usados en la preparación de los dispositivos de matriz son plásticos insolubles, polímeros hidrófilos, y compuestos grasos. Las matrices plásticas incluyen, aunque no de forma limitativa, acrilato de metilo, metacrilato de metilo, poli(cloruro de vinilo), y polietileno. Los polímeros hidrófilos incluyen, aunque no de forma limitativa, polímeros celulósicos tales como metilcelulosa y etilcelulosa, hidroxialquilcelulosas tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, y Carbopol® 934, poli(óxido de etileno), y mezclas de los mismos. Los compuestos grasos incluyen, aunque no de forma limitativa, diferentes ceras tales como cera de carnaúba y triestearato de glicerilo, y sustancias cerúleas que incluyen el aceite de ricino hidrogenado o el aceite vegetal hidrogenado, o mezclas de los mismos.

En ciertas realizaciones, el material plástico es un polímero acrílico farmacéuticamente aceptable, que incluyen, pero sin limitación, copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etoxietilo, metacrilato de cianoetilo, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de ácido metacrílico con alquilamina, poli(metacrilato de metilo), poli(ácido metacrílico)(anhídrido), polimetacrilato, poli(acrilamida), poli(ácido metacrílico anhídrido), y copolímeros de metacrilato de glicidilo. En ciertas realizaciones, el polímero acrílico está formado por uno o más copolímeros de metacrilato de amonio. Los copolímeros de metacrilato de amonio son bien conocidas en la materia, y se describen en NF XVII como copolímeros totalmente polimerizados de ésteres de ácido acrílico y metacrílico con un bajo contenido en grupos de amonio cuaternario.

En una realización, el polímero acrílico es una laca de resina acrílica tal como la que está comercialmente disponible de Rohm Pharma con el nombre comercial EUDRAGIT®. En realizaciones adicionales preferidas, el polímero acrílico comprende una mezcla de dos lacas de resina acrílica comercialmente disponible de Rohm Pharma con los nombres comerciales EUDRAGIT® RL30D y EUDRAGIT® RS30D, respectivamente. EUDRAGIT® RL30D y EUDRAGIT® RS30D son copolímeros de ésteres acrílicos y metacrílicos con un bajo contenido en grupos de amonio cuaternario,

siendo la relación molar entre los grupos amonio y el resto de los ésteres (met)acrílicos neutros 1:20 en EUDRAGIT® RL30D y 1:40 en EUDRAGIT® RS30D. El peso molecular medio es de aproximadamente 150.000. EUDRAGIT® S-100 y EUDRAGIT® L-100 son también preferidos. Las designaciones de código RL (alta permeabilidad) y RS (baja permeabilidad) se refieren a las propiedades de permeabilidad de dichos agentes. Las mezclas EUDRAGIT® RL/RS son insolubles en agua y en los fluidos digestivos. Sin embargo, los sistemas multiparticulados formados para incluir los mismos son hinchables y permeables en soluciones acuosas y fluidos digestivos.

Los polímeros anteriormente descritos tales como EUDRAGIT® RL/RS se pueden mezclar entre sí en cualquier relación adecuada para obtener finalmente una formulación de liberación continua que tenga un perfil de disolución deseado. Los sistemas multiparticulados de liberación sostenida deseables se pueden obtener, por ejemplo, a partir de 100 % EUDRAGIT®RL, 50 % EUDRAGIT® RL y 50 % EUDRAGIT® RS, y 10 % EUDRAGIT® RL y 90 % EUDRAGIT® RS. Un experto en la materia reconocerá que se pueden usar también otros polímeros acrílicos, tal como, por ejemplo, EUDRAGIT®L.

Como alternativa, las formulaciones de liberación prolongada se pueden preparar usando sistemas osmóticos o mediante la aplicación de un revestimiento semipermeable a la forma de dosificación. En este último caso, el perfil de liberación del fármaco deseado se puede conseguir cuando se combinan materiales de revestimiento de baja permeabilidad y de alta permeabilidad en una proporción adecuada.

Los dispositivos con diferentes mecanismos de liberación del fármaco anteriormente descritos se pueden combinar en una forma de dosificación final que comprende unidades simples o múltiples. Los ejemplos de unidades múltiples incluyen, aunque no de forma limitativa, comprimidos multicapa y cápsulas que contienen comprimidos, perlas, o gránulos. Se puede añadir una porción de liberación inmediata al sistema de liberación prolongada mediante la aplicación de bien una capa de liberación inmediata sobre la parte superior del núcleo de liberación prolongada usando un procedimiento de revestimiento o compresión o en un sistema de múltiples unidades tales como una cápsula que contiene perlas de liberación prolongada e inmediata.

Los comprimidos de liberación prolongada que contienen polímeros hidrófilos se preparan mediante técnicas normalmente conocidas en la materia tales como compresión directa, granulación por vía húmeda, o granulación por vía seca. Sus formulaciones suelen incorporar polímeros, diluyentes, aglutinantes, y lubricantes, así como el principio farmacéuticamente activo. Los diluyentes habituales incluyen sustancias pulverulentas inertes tales como almidones, celulosa en polvo, especialmente celulosa cristalina y microcristalina, azúcares tales como fructosa, manitol y sacarosa, grano molido fino de cereales y polvos comestibles similares. Los diluyentes típicos incluyen, por ejemplo, varios tipos de almidón, lactosa, manitol, caolín, fosfato o sulfato de calcio, sales inorgánicas tales como cloruro de sodio y azúcar en polvo. Los derivados de celulosa en polvo también son de utilidad. Los aglutinantes típicos para comprimidos incluyen sustancias tales como almidón, gelatina y azúcares tales como lactosa, fructosa, y glucosa. Las gomas naturales y sintéticas, que incluyen acacia, alginatos, metilcelulosa, y polivinilpirrolidona, también pueden ser de utilidad. Polietilenglicol, los polímeros hidrófilos, etilcelulosa y ceras también pueden servir como aglutinantes. Un lubricante es necesario en una formulación de comprimido para evitar que el comprimido y los punzones se adhieran al troquel. El lubricante se selecciona entre sólidos deslizantes como talco, estearato de magnesio y calcio, ácido esteárico y aceites vegetales hidrogenados.

Los comprimidos de liberación prolongada que contienen materiales cerúleos se preparan de forma general usando procedimientos conocidos en la materia, tales como un procedimiento de mezcla directa, un procedimiento de congelación, y un procedimiento de dispersión en medio acuoso. En el procedimiento de congelación, el fármaco se mezcla con un material cerúleo y bien se congela por pulverización o se congela y se tamiza y procesa.

Formulaciones de liberación retardada

Las formulaciones de liberación retardada se pueden crear revistiendo una forma de dosificación sólida con una película de polímero, que sea insoluble en el entorno ácido del estómago, y soluble en el ambiente neutro del intestino delgado.

Las unidades de dosificación retardada se pueden preparar, por ejemplo, revistiendo un fármaco o una composición que contiene fármaco con un material de revestimiento seleccionado. La composición que contiene fármaco puede ser, por ejemplo, un comprimido para su incorporación a una cápsula, un comprimido para su uso como núcleo interno en una forma de dosificación de "núcleo revestido", o una pluralidad de perlas, partículas o gránulos que contienen fármaco, para su incorporación bien a un comprimido o a una cápsula. Los materiales de revestimiento preferidos incluyen polímeros bioerosionables, gradualmente hidrolizables, gradualmente solubles en agua, y/o enzimáticamente degradables, y pueden ser polímeros "entéricos" convencionales. Los polímeros entéricos, como apreciarán los expertos en la técnica, se vuelven solubles en entornos de pH más elevado del tracto gastrointestinal inferior, o bien se erosionan lentamente a medida que la forma de dosificación pasa por el tracto gastrointestinal, mientras que los polímeros enzimáticamente degradables se degradan por las enzimas bacterianas presentes en el tracto gastrointestinal inferior, particularmente en el colon. Los materiales de revestimiento adecuados para realizar una liberación retardada incluyen, aunque no de forma limitativa, polímeros celulósicos tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, acetato de celulosa, ftalato acetato de celulosa,

acetatotrimelitato de celulosa y carboximetilcelulosa sódica; polímeros y copolímeros de ácido acrílico, preferentemente formados a partir de ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilato de metilo, acrilato de etilo, metacrilato de metilo y/o metacrilato de etilo, y otras resinas metacrílicas que están comercialmente disponibles con el nombre comercial EUDRAGIT® (Rohm Pharma; Westerstadt, Alemania), incluidas EUDRAGIT® L30D-55 y L100-55 (soluble a pH 5,5 y superior), EUDRAGIT® L-100 (soluble a pH 6,0 y superior), EUDRAGIT® S (soluble a pH 7,0 y superior, como resultado de un mayor grado de esterificación), y EUDRAGITs® NE, RL y RS (polímeros insolubles en agua que tienen diferentes grados de permeabilidad y expansibilidad); polímeros y copolímeros de vinilo tales como polivinilpirrolidona, acetato de vinilo, acetatoftalato de vinilo, copolímero de acetato con ácido crotonico, y copolímero de etileno-acetato de vinilo; polímeros enzimáticamente degradables tales como los azopolímeros, pectina, quitosán, amilasa y goma guar; zeína y shellac. También se pueden usar combinaciones de diferentes materiales de revestimiento. También se pueden aplicar revestimientos multicapa que utilizan diferentes polímeros.

El experto en la materia puede determinar fácilmente los pesos de revestimiento preferidos para materiales de revestimiento concretos cuando evalúa los perfiles de liberación individuales para los comprimidos, perlas y gránulos preparados con diferentes cantidades de los distintos materiales de revestimiento. Es la combinación de materiales, procedimiento y forma de aplicación que producen las características de liberación deseadas, lo que se puede determinar solamente a partir de estudios clínicos.

La composición de revestimiento puede incluir aditivos convencionales, tales como plastificantes, pigmentos, colorantes, agentes estabilizantes, agentes deslizantes, etc. Un plastificante está normalmente presente para reducir la fragilidad del revestimiento, y por lo general representará de aproximadamente un 10% en peso a aproximadamente un 50% en peso, con respecto al peso en seco del polímero. Los ejemplos de plastificantes típicos incluyen polietilenglicol, propilenglicol, triacetina, ftalato de dimetilo, ftalato de dietilo, ftalato de dibutilo, sebacato de dibutilo, citrato de trietilo, citrato de tributilo, acetil citrato de trietilo, aceite de ricino y monoglicéridos acetilados. Un agente estabilizante se utiliza preferentemente para estabilizar las partículas en la dispersión. Los agentes estabilizantes típicos son emulsionantes no iónica tales como ésteres de sorbitán, polisorbatos y polivinilpirrolidona. Los agentes deslizantes están recomendados para reducir los efectos de adherencia durante la formación de la película y el secado, y representarán por lo general aproximadamente del 25% en peso al 100% en peso del peso del polímero en la solución de revestimiento. Un agente deslizante eficaz es el talco. También se pueden usar otros agentes de deslizamiento tales como estearato de magnesio y monoestearatos de glicerol. También se pueden usar pigmentos tales como dióxido de titanio. Pequeñas cantidades de un agente antiespumante, tal como silicona (por ejemplo, simeticona), se pueden añadir también a la composición de revestimiento.

Liberación pulsada

La formulación se puede proporcionar mediante liberación pulsada del uno o más de los compuestos desvelados en el presente documento. Por "pulsada" se entiende que una pluralidad de dosis de fármaco se libera en intervalos de tiempo separados entre sí. En general, tras la ingestión de la forma de dosificación, la liberación de la dosis inicial es prácticamente inmediata, es decir, el primer "pulso" de fármaco liberado se produce en el plazo de aproximadamente una hora después de la ingestión. Este pulso inicial va seguido por un primer intervalo de tiempo (tiempo de retraso) durante el cual se libera muy poco o nada de fármaco desde la forma de dosificación, transcurrido el cual se libera una segunda dosis. De manera similar, se puede diseñar un segundo intervalo prácticamente exento de liberación del fármaco entre el segundo y el tercer pulso de liberación del fármaco. La duración del segundo intervalo prácticamente exento de liberación del fármaco variará dependiendo del diseño de la forma de dosificación, por ejemplo, un perfil de dosificación de dos veces al día, un perfil de dosificación de tres veces al día, etc. Para formas de dosificación que proporcionan un perfil de dosificación de dos veces al día, el intervalo prácticamente exento de liberación del fármaco tiene una duración de aproximadamente 3 horas a aproximadamente 14 horas entre la primera y la segunda dosis. Para las formas de dosificación que proporcionan un perfil de dosificación de tres veces al día, el intervalo prácticamente exento de liberación del fármaco tiene una duración de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 8 horas entre cada una de las tres dosis.

En una realización, el perfil de liberación pulsada se consigue con formas de dosificación que son cápsulas cerradas y preferentemente selladas que alojan al menos dos "unidades de dosificación" que contienen fármaco, en la que cada unidad de dosificación contenida en la cápsula proporciona un perfil de liberación del fármaco diferente. El control de una o varias unidades de dosificación de liberación retardada se lleva a cabo mediante un revestimiento polimérico de liberación controlada sobre la unidad de dosificación, o mediante la incorporación del principio activo a una matriz polimérica de liberación controlada. Cada unidad de dosificación puede comprender un comprimido fabricado por compresión o moldeo, en la que cada comprimido dentro de la cápsula proporciona un perfil de liberación del fármaco diferente. Para las formas de dosificación que imitan un perfil de dosificación de dos veces al día, un primer comprimido libera el fármaco de forma prácticamente inmediata tras la ingesta de la forma de dosificación, mientras que un segundo comprimido libera el fármaco de aproximadamente 3 horas a menos de 14 horas después de la ingestión de la forma de dosificación. Para las formas de dosificación que imitan un perfil de dosificación de tres veces al día, un primer comprimido libera el fármaco de forma prácticamente inmediata tras la ingesta de la forma de dosificación, un segundo comprimido libera fármaco de aproximadamente 3 horas a menos de 10 horas después de la ingestión de la forma de dosificación, y el tercer comprimido libera el fármaco de aproximadamente 5 horas a aproximadamente 18 horas después de la ingestión de la forma de dosificación. Es posible que la forma de dosificación incluya más de tres comprimidos. Aunque la forma de dosificación no incluirá por lo general más de un tercer comprimido, se pueden

utilizar formas de dosificación que incluyan más de tres comprimidos.

Como alternativa, cada unidad de dosificación contenida en la cápsula puede comprender una pluralidad de perlas, gránulos o partículas que contienen fármaco. Como se sabe en la materia, "perlas" que contienen fármaco se refiere a perlas fabricadas con fármaco y uno o más excipientes o polímeros. Las perlas que contienen fármaco se pueden producir aplicando el fármaco a un soporte inerte, por ejemplo, perlas de azúcar inertes revestidas con fármaco, o mediante la creación de un "núcleo" que comprende tanto fármaco como uno o más excipientes. Como es también conocido, los "gránulos" y "partículas" que contienen fármaco comprenden partículas de fármaco que pueden incluir o no uno o más excipientes o polímeros adicionales. A diferencia de las perlas que contienen fármaco, los gránulos y las partículas no contienen un soporte inerte. Los gránulos generalmente comprenden partículas de fármaco y necesitan procesamiento adicional. En general, las partículas son más pequeñas que los gránulos, y no se procesan adicionalmente. Aunque las perlas, gránulos y partículas se pueden formular para proporcionar una liberación inmediata, las perlas y los gránulos se utilizan por lo general para proporcionar una liberación retardada.

C. Formulaciones parenterales

Los compuestos se pueden formular para la administración parenteral. "Administración parenteral", como se usa en el presente documento, significa la administración por cualquier procedimiento que no sea el tracto digestivo, o las vías no invasivas tópica o regional. Por ejemplo, la administración parenteral puede incluir la administración a un paciente por vía intravenosa, por vía intradérmica, intraperitoneal, intrapleural, intratraqueal, intramuscular, subcutánea, mediante inyección, y mediante infusión.

Las formulaciones parenterales se pueden preparar en forma de composiciones acuosas usando técnicas conocidas en la materia. Normalmente, dichas composiciones se pueden preparar como formulaciones inyectables, por ejemplo, soluciones o suspensiones; formas sólidas adecuadas para usar en la preparación de soluciones o suspensiones tras la adición de un medio de reconstitución antes de la inyección; emulsiones, tales como emulsiones de agua en aceite (w/o), emulsiones de aceite en agua (o/w), y microemulsiones de las mismos, liposomas, o emulsomas.

El vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, uno o más polioles (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido), aceites, tales como aceites vegetales (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de sésamo, etc. y combinaciones de los mismos. Puede mantenerse la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula necesario en el caso de la dispersión y/o mediante el uso de tensioactivos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico.

Las soluciones y dispersiones de los principios activos en forma de ácido o base libre o sales farmacológicamente aceptables de los mismos se pueden preparar en agua u otro disolvente o medio de dispersión, mezclado adecuadamente con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables que incluyen, aunque no de forma limitativa, tensioactivos, dispersantes, emulsionantes, agentes modificadores del pH y combinaciones de los mismos.

Los tensioactivos adecuados pueden ser agentes de superficie activa aniónicos, catiónicos, anfóteros o no iónicos. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, los que contienen iones carboxilato, sulfonato y sulfato. Los ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen sales de sodio, potasio, y amonio de alquilarilsulfonatos y alquilarilsulfonatos de cadena larga tales como dodecilbencenosulfonato; dialquilsulfosulccinatos de sodio, tales como dodecilbencenosulfonato de sodio; dialquilsulfosulccinatos de sodio, tales como bis-(2-etiltioxil)-sulfosuccinato de sodio; y alquilsulfatos tales como laurilsulfato de sodio. Los tensioactivos catiónicos incluyen, aunque no de forma limitativa, compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, bromuro de cetrimonio, cloruro de estearil dimetilbencilamonio, polioxietileno y cocoamina. Los ejemplos de tensioactivos no iónicos incluyen monoestearato de etilenglicol, miristato de propilenglicol, monoestearato de glicerilo, estearato de glicerilo, poligliceril-4-oleato, acilato de sorbitán, acilato de sacarosa, laurato de PEG-150, monolaurato de PEG-400, monolaurato de polioxietileno, polisorbato, octilfeniléter polioxietilenado, PEG-1000 cetil éter, tricetil éter polioxietilenado, propilenglicol butil éter, Poloxamer® 401, estearoil monoisopropanolamida, y seboamida hidrogenada polioxietilenada. Los ejemplos de tensioactivos anfóteros incluyen N-dodecil-β-alanina de sodio, N-lauril-β-iminodipropionato de sodio, miristoanfoacetato, lauril betaína, y lauril sulfobetaína.

La formulación puede contener un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos. Los conservantes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y timerosal. La formulación también puede contener un antioxidante para prevenir la degradación del uno o más principios activos.

La formulación está típicamente tamponada a un pH de 3-8 para la administración parenteral tras su reconstitución. Los tampones adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, tampones fosfato, tampones acetato, y tampones citrato.

Los polímeros solubles en agua se utilizan frecuentemente en formulaciones para administración parenteral. Los polímeros solubles en agua adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, polivinilpirrolidona, dextrano, carboximetilcelulosa, y polietilenglicol.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando los principios activos en las cantidades

necesarias en el disolvente o medio de dispersión adecuado con uno o más de los excipientes anteriormente relacionados, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando los diferentes principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los demás ingredientes necesarios de entre los anteriormente relacionados. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son las técnicas de secado a vacío y las técnicas de criodesecación que dan como resultado un polvo del principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una de sus soluciones anteriormente esterilizadas por filtración. Los polvos se pueden preparar de tal forma que las partículas son de tipo poroso, lo que puede aumentar la disolución de las partículas. Los procedimientos para fabricar partículas porosas son bien conocidos en la técnica.

1. Formulaciones de liberación controlada

Las formulaciones parenterales descritas en el presente documento se pueden formular para liberación controlada incluida la liberación inmediata, liberación retardada, liberación extendida, liberación pulsada, y combinaciones de las mismas.

Nanopartículas y micropartículas

Para administración parenteral, los compuestos y, opcionalmente, uno o más principios activos adicionales, se pueden incorporar a micropartículas, nanopartículas, o combinaciones de las mismas que proporcionan liberación controlada. En realizaciones en las que las formulaciones contienen dos o más fármacos, los fármacos se pueden formular para el mismo tipo de liberación controlada (por ejemplo, retardada, prolongada, inmediata, o pulsada) o los fármacos se pueden formular independientemente para diferentes tipos de liberación (por ejemplo, inmediata y retardada, inmediata y prolongada, retardada y prolongada, retardada y pulsada, etc.).

Por ejemplo, los compuestos y/o uno o más principios activos adicionales se pueden incorporar a las micropartículas poliméricas que proporcionan liberación controlada del uno o más fármacos. La liberación del uno o más fármacos se controla mediante difusión del uno o más fármacos al exterior de las micropartículas y/o degradación de las partículas poliméricas mediante hidrólisis y/o degradación enzimática. Los polímeros adecuados incluyen etilcelulosa y otros derivados de celulosa, naturales o sintéticos.

Los polímeros que son lentamente solubles y forman un gel en medio acuoso, tales como hidroxipropil metilcelulosa o poli(óxido de etileno) pueden ser también adecuados como materiales para micropartículas que contienen fármaco. Otros polímeros incluyen, aunque no de forma limitativa, polianhídridos, anhídridos de poliéster, polihidroxiácidos, tales como polilactida (PLA), poliglicólido (PGA), poli(láctido-co-glicólido) (PLGA), poli-3-hidroxibutirato (PHB) y copolímeros de los mismos, poli-4-hidroxibutirato (P4HB) y copolímeros de los mismos, policaprolactona y copolímeros de los mismos, y combinaciones de los mismos.

Como alternativa, el uno o más fármacos se pueden incorporar a micropartículas preparadas a partir de materiales que son insolubles en solución acuosa, o lentamente solubles en solución acuosa, pero son capaces de degradarse dentro del tracto GI por medios que incluyen la degradación enzimática, la acción tensioactiva de los ácidos biliares, y/o la erosión mecánica. Como se usa en el presente documento, la expresión "lentamente soluble en agua" se refiere a los materiales que no se disuelven en agua en un periodo de 30 minutos. Los ejemplos preferidos incluyen grasas, sustancias grasas, ceras, sustancias cerúleas y mezclas de los mismos. Las grasas y sustancias grasas adecuadas incluyen alcoholes grasos (tales como alcohol laurílico, miristílico, estearílico, cetílico o cetosteárilico), ácidos grasos y derivados, que incluyen, aunque no de forma limitativa, ésteres de ácido graso, glicérido de ácido graso (monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos) y grasas hidrogenadas. Los ejemplos específicos incluyen, aunque no de forma limitativa, aceite vegetal hidrogenado, aceite de semilla de algodón hidrogenado, aceite de ricino hidrogenado, aceites hidrogenados disponibles con el nombre comercial Sterotex®, ácido esteárico, manteca de cacao, y alcohol estearílico. Las ceras y materiales cerúleos adecuados incluyen ceras naturales o sintéticas, hidrocarburos, y ceras normales. Los ejemplos específicos de ceras incluyen cera de abejas, glycowax, cera de ricino, cera de carnaúba, parafinas y cera de candelilla. Como se usa en el presente documento, un material cerúleo se define como cualquiera material que es normalmente sólido a temperatura ambiente y tiene un punto de fusión de aproximadamente 30 a 300 °C.

En algunos casos, puede ser deseable alterar la velocidad de penetración del agua en las micropartículas. Para este fin, se pueden formular agentes controladores de la velocidad (mechado) junto con las grasas o ceras anteriormente relacionadas. Los ejemplos de materiales controladores de la velocidad incluyen algunos derivados de almidón (por ejemplo, maltodextrina cerúlea y almidón de maíz secado en tambor), derivados de celulosa (por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, y carboximetilcelulosa), ácido algínico, lactosa y talco. Adicionalmente, se puede añadir un tensioactivo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, lecitina) para facilitar la degradación de dichas micropartículas.

Las proteínas que son insolubles en agua, tales como zeína, también se pueden usar como materiales para la formación de micropartículas que contienen fármaco. Adicionalmente, proteínas, polisacáridos y combinaciones de los mismos que sean solubles en agua se pueden formular con el fármaco formando micropartículas y, posteriormente, reticular para formar una red insoluble. Por ejemplo, las ciclodextrinas se pueden complejar con moléculas de fármaco

individuales y posteriormente reticularse.

La encapsulación o la incorporación del fármaco a los materiales transportadores para producir micropartículas que contienen fármaco se puede conseguir mediante técnicas de formulación farmacéutica conocidas. En el caso de la formulación en grasas, ceras o materiales cerúleos, el material transportador se calienta de forma típica por encima de su temperatura de fusión y el fármaco se añade para formar una mezcla que comprende partículas de fármaco suspendidas en el material transportador, fármaco disuelto en el material transportador, o una mezcla de los mismos. Posteriormente, las micropartículas se pueden formular por diferentes procedimientos que incluyen, aunque no de forma limitativa, los procedimientos de congelación, extrusión, enfriado por pulverización o dispersión acuosa. En un procedimiento preferido, la cera se calienta por encima de su temperatura de fusión, se añade el fármaco, y la mezcla de cera fundida-fármaco se congela con agitación constante a medida que la mezcla se enfría. Como alternativa, la mezcla de cera fundida-fármaco se puede extrudir y esferonizar para formar aglomerados o perlas. Las descripciones detalladas de estos procedimientos se pueden encontrar en "Remington- The science and practice of pharmacy", 20ª Edición, Jennaro et. al., (Phila., Lippencott, Williams, y Wilkens, 2000).

Para algunos materiales transportadores, puede ser deseable utilizar una técnica de evaporación del disolvente para producir micropartículas que contienen fármaco. En este caso, el fármaco y el material transportador se disuelven conjuntamente en un disolvente común, y las micropartículas se pueden producir posteriormente por diferentes técnicas entre las que se incluyen, aunque no de forma limitativa, la formación de una emulsión en agua u otro medio adecuado, secado por pulverización, o mediante eliminación por evaporación del disolvente de la solución a granel y molienda del material resultante.

En algunas realizaciones, el fármaco en forma de partículas se dispersa de forma homogénea en un material insoluble en agua o lentamente soluble en agua. Para minimizar el tamaño de las partículas de fármaco dentro de la composición, el propio fármaco pulverulento se puede molidurar para generar partículas finas antes de la formulación. El procedimiento de molienda en chorro, conocido en la técnica farmacéutica, se puede usar con este fin. En algunas realizaciones, el fármaco en forma de partículas se dispersa homogéneamente en una cera o sustancia cerúlea calentando la cera o la sustancia cerúlea por encima de su punto de fusión, y añadir las partículas de fármaco mientras se agita la mezcla. En este caso, se puede añadir un tensioactivo farmacéuticamente aceptable a la mezcla para facilitar la dispersión de las partículas de fármaco.

Las partículas también se pueden revestir con uno o más revestimientos de liberación modificada. Los ésteres o ácidos grasos sólidos, que se han hidrolizado mediante lipasas, se pueden revestir mediante pulverización sobre micropartículas o partículas de fármaco. La zeína es un ejemplo de proteína insoluble en agua natural. Se puede revestir sobre micropartículas que contienen fármaco o partículas de fármaco por revestimiento mediante pulverización o por técnicas de granulación por vía húmeda. Además de los materiales insolubles en agua de forma natural, algunos sustratos de las enzimas digestivas se pueden tratar con procedimientos de reticulación, dando como resultado la formación de redes no solubles. Se han notificado muchos procedimientos para reticular proteínas, iniciados por procedimientos tanto químicos como físicos. Uno de los procedimientos más habituales para obtener reticulación es el uso de agentes de reticulación químicos. Los ejemplos de agentes de reticulación químicos incluyen aldehídos (glutaraldehído y formaldehído), compuesto epoxi, carbodiimidas, y genipina. Además de estos agentes de reticulación, se han utilizado azúcares oxidados y naturales para reticular la gelatina (Cortesi, R., y col., Biomaterials 19 (1998) 1641-1649). La reticulación también se puede llevar a cabo usando medios enzimáticos; por ejemplo, la transglutaminasa se ha autorizado como sustancia GRAS para reticular productos derivados del marisco. Finalmente, la reticulación se puede iniciar por medios físicos tales como tratamiento térmico, irradiación UV e irradiación gamma.

Para producir una capa de revestimiento de proteína reticulada que rodea las micropartículas que contienen fármaco o las partículas de fármaco, una proteína soluble en agua se puede revestir mediante pulverización sobre las micropartículas y posteriormente reticularse por uno de los procedimientos anteriormente descritos. Como alternativa, las micropartículas que contienen fármaco se pueden microencapsular dentro de proteínas mediante separación de fases por coacervación (por ejemplo, mediante adición de sales) y posteriormente reticulación. Algunas proteínas adecuadas para este fin incluyen gelatina, albúmina, caseína, y gluten. Los polisacáridos también se pueden reticular para formar una red insoluble en agua. Para muchos polisacáridos, esto se puede llevar a cabo por reacción con sales de calcio o cationes multivalentes que reticulan las cadenas de polímero principales. Pectina, alginato, dextral), amilosa y goma guar se someten a reticulación en presencia de cationes multivalentes. También se pueden formar complejos entre polisacáridos de cargas opuestas; pectina y quitosana, por ejemplo, se pueden complejar mediante interacciones electrostáticas.

Formulaciones de depósito

Los principios activos se pueden formular para inyección de depósito. En una inyección de depósito, el principio activo se formula con uno o más transportadores farmacéuticamente aceptables que proporcionan la liberación gradual del principio activo durante un periodo de horas o días después de la inyección. La formulación de depósito se puede administrar por cualquier medio adecuado; sin embargo, la formulación de depósito se administra típicamente por inyección subcutánea o intramuscular.

Una variedad de transportadores se puede incorporar a la formulación de depósito para proporcionar la liberación

controlada del principio activo. En algunos casos, las formulaciones de depósito contienen uno o más transportadores biodegradables poliméricos u oligoméricos. Los transportadores poliméricos adecuados incluyen, pero no se limitan a poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), copolímeros en bloque de poli(ácido láctico)-polietilenglicol (PLA-PEG), polianhídridos, anhídridos de poliéster), poliglicólido (PGA), poli-3-hidroxibutirato (PHB) y copolímeros de los mismos, poli-4-hidroxibutirato (PHB), policaprolactona, celulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, así como mezclas, derivados, copolímeros, y combinaciones de los mismos.

En las formulaciones de depósito que contienen un transportador polimérico u oligomérico, el transportador y el principio activo se pueden formular como una solución, una emulsión, o una suspensión. Uno o más compuestos y, opcionalmente, uno o más principios activos adicionales, también se pueden incorporar a las micropartículas poliméricas u oligoméricas, nanopartículas o combinaciones de las mismas.

En algunos casos, la formulación es diluida y está diseñada para solidificar o gelificar (es decir, formar un hidrogel o un organogel) tras la inyección. Esto puede dar como resultado un cambio en la solubilidad de la composición después de la inyección o, por ejemplo, mediante la inyección de un prepolímero mezclado con un iniciador y/o agente de reticulación. La matriz de polímero, solución de polímero, o partículas poliméricas atrapan el principio activo en el sitio de la inyección. A medida que el transportador polimérico se degrada gradualmente, el principio activo se libera, bien por difusión del agente hacia el exterior de la matriz y/o disipación de la matriz a medida que se absorbe. La velocidad de liberación del principio activo desde el sitio de inyección se puede controlar variando, por ejemplo, la composición química, peso molecular, densidad de reticulación, y/o concentración del transportador polimérico. Los ejemplos de dichos sistemas incluyen los descritos en las patentes de Estados Unidos con números 4.938.763, 5.480.656 y 6.113.943.

Las formulaciones de depósito también se pueden preparar usando otros excipientes controladores de la velocidad, incluidos materiales hidrófobos, incluidos aceites aceptables (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, etc.) y fosfolípidos, resinas de intercambio iónico, y transportadores poco solubles.

La formulación de depósito puede contener además un disolvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, uno o más polioles (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido), aceites, tales como aceites vegetales (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de sésamo, etc.) y combinaciones de los mismos. Puede mantenerse la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula necesario en el caso de la dispersión y/o mediante el uso de tensioactivos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico.

Las soluciones y dispersiones de los compuestos en forma de ácido o base libre o sales farmacológicamente aceptables de los mismos se pueden preparar en agua u otro disolvente o medio de dispersión, mezclado adecuadamente con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables que incluyen, aunque no de forma limitativa, tensioactivos, dispersantes, emulsionantes, agentes modificadores del pH y combinaciones de los mismos.

Los tensioactivos adecuados pueden ser agentes de superficie activa aniónicos, catiónicos, anfóteros o no iónicos. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, los que contienen iones carboxilato, sulfonato y sulfato. Los ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen sales de sodio, potasio, y amonio de alquilarilsulfonatos y alquilarilsulfonatos de cadena larga tales como dodecilbencenosulfonato; dialquilsulfosulccinatos de sodio, tales como dodecilbencenosulfonato de sodio; dialquilsulfosulccinatos de sodio, tales como bis-(2-etiltioxil)-sulfosuccinato de sodio; y alquilsulfatos tales como laurilsulfato de sodio. Los tensioactivos catiónicos incluyen, aunque no de forma limitativa, compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, bromuro de cetrimonio, cloruro de estearil dimetilbencilamonio, polioxietileno y cocoamina. Los ejemplos de tensioactivos no iónicos incluyen monoestearato de etilenglicol, miristato de propilenglicol, monoestearato de glicerilo, estearato de glicerilo, poligliceril-4-oleato, acilato de sorbitán, acilato de sacarosa, laurato de PEG-150, monolaurato de PEG-400, monolaurato de polioxietileno, polisorbatos, octilfeniléter polioxietilenado, PEG-1000 cetil éter, tricetil éter polioxietilenado, propilenglicol butil éter, Poloxamer® 401, estearoil monoisopropanolamida, y seboamida hidrogenada polioxietilenada. Los ejemplos de tensioactivos anfóteros incluyen N-dodecil-β-alanina de sodio, N-lauril-β-iminodipropionato de sodio, miristoanfoacetato, lauril betaína, y lauril sulfobetaina.

La formulación puede contener un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos. Los conservantes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y timerosal. La formulación también puede contener un antioxidante para prevenir la degradación del uno o más principios activos.

La formulación está típicamente tamponada a un pH de 3-8 para la administración parenteral tras su reconstitución. Los tampones adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, tampones fosfato, tampones acetato, y tampones citrato.

Los polímeros solubles en agua se utilizan frecuentemente en formulaciones para administración parenteral. Los polímeros solubles en agua adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, polivinilpirrolidona, dextrano, carboximetilcelulosa, y polietilenglicol.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando los principios activos en las cantidades

necesarias en el disolvente o medio de dispersión adecuado con uno o más de los excipientes anteriormente relacionados, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando los diferentes principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los demás ingredientes necesarios de entre los anteriormente relacionados. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son las técnicas de secado a vacío y las técnicas de criodesecación que dan como resultado un polvo del principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una de sus soluciones anteriormente esterilizadas por filtración. Los polvos se pueden preparar de tal forma que las partículas son de tipo poroso, lo que puede aumentar la disolución de las partículas. Los procedimientos para fabricar partículas porosas son bien conocidos en la técnica.

10 *Implantes*

El implante de un sistema de liberación lenta o de liberación prolongada, de forma que se mantenga un nivel constante de dosificación, también se contempla en el presente documento. En tales casos, el uno o más principios activos proporcionados en el presente documento se pueden dispersar en una matriz sólida opcionalmente revestida con una membrana exterior controladora de la velocidad. El compuesto se difunde desde la matriz sólida (y opcionalmente a través de la membrana exterior) con una liberación prolongada de velocidad controlada. La matriz sólida y la membrana se pueden formar a partir de cualquier material adecuado conocido en la técnica incluyendo, aunque no de forma limitativa, polímeros, polímeros bioerosionables, e hidrogeles.

D. Formulaciones pulmonares

Los compuestos descritos en el presente documento se pueden formular para la administración parenteral. Las formulaciones farmacéuticas y los procedimientos para administración pulmonar son conocidos en la técnica.

El tracto respiratorio es la estructura implicada en el intercambio de gases entre la atmósfera y el torrente sanguíneo. El tracto respiratorio abarca las vías respiratorias superiores, incluida la orofaringe y la laringe, seguido por las vías respiratorias inferiores, que incluyen la tráquea, seguida por las bifurcaciones a los bronquios y bronquiolos. Las vías respiratorias superiores e inferiores se denominan las vías respiratorias conductoras. Posteriormente, los bronquiolos finales se dividen en los bronquiolos respiratorios que posteriormente dan lugar a la zona respiratoria final, los alvéolos, o pulmón profundo, donde se produce el intercambio de gases.

El área de la superficie alveolar es la más grande del sistema respiratorio y es donde se produce la absorción del fármaco. Los alvéolos están cubiertos por un epitelio fino sin cilios o una capa mucosa y secretan fosfolípidos tensioactivos. La administración eficaz de agentes terapéuticos por vía pulmonar requiere que el principio activo esté formulado de manera que llegue a los alvéolos.

En el caso de la administración pulmonar, las formulaciones se pueden dividir en formulaciones de polvo seco y formulaciones líquidas. Las formulaciones tanto de polvo seco como líquidas se pueden usar para conformar formulaciones en aerosol. El término aerosol, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier preparación de una niebla fina de partículas, que pueden estar en solución o en suspensión, según se produzcan o no usando un propulsor. Las formulaciones útiles, y los procedimientos de fabricación, se describen en Caryalho, y col., J Aerosol Med Pulm Drug Deliv. abril de 2011; 24(2):61-80. Epub 16 de marzo de 2011, para la administración de fármacos quimioterapéuticos a los pulmones.

1. Formulaciones de polvo seco

Las formulaciones de polvo seco son formulaciones sólidas finamente divididas que contienen uno o más principios activos que son adecuadas para su administración por vía pulmonar. En las formulaciones de polvo seco, el uno o más principios activos se pueden incorporar en forma cristalina o amorfa.

Las formulaciones de polvo seco se pueden administrar mediante inhalación pulmonar a un paciente sin el beneficio de ningún transportador, salvo el aire o un propulsor adecuado. Preferentemente, sin embargo, las formulaciones de polvo seco incluyen uno o más transportadores farmacéuticamente aceptables.

El transportador farmacéutico puede incluir un agente de carga, tales como carbohidratos (incluyendo monosacáridos, polisacáridos, y ciclodextrinas), polipéptidos, aminoácidos, y combinaciones de los mismos. Los agentes de carga adecuados incluyen fructosa, galactosa, glucosa, lactitol, lactosa, maltitol, maltosa, manitol, melezitosa, mioinositol, palatinita, rafinosa, estaquiosa, sacarosa, trehalosa, xilitol, hidratos de los mismos, y combinaciones de los mismos.

El transportador farmacéutico puede incluir un lípido o un tensioactivo. Los tensioactivos naturales, tales como dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) son los más preferidos. Está comercialmente disponible para el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria en bebés prematuros. Los tensioactivos pulmonares sintéticos y derivados de animales incluyen:

Tensioactivos pulmonares sintéticos

Exosurf ®- una mezcla de DPPC con hexadecanol y tiloxapol añadidos como agentes de dispersión Pumactant

(compuesto de expansión del pulmón artificial o

ALEC) - una mezcla de DPPC y PG

KL-4 - compuesto de DPPC, palmitoil-oleoil fosfatidilglicerol, y ácido palmítico, combinado con un péptido sintético de 21 aminoácidos que imita las características estructurales del SP-B.

5 Venticute - DPPC, PG, ácido palmítico y SP-C recombinante

Tensioactivos derivados de animales

Alveofact® - extraído del fluido de lavado de pulmón de vaca

Curosurf® - extraído de material derivado de pulmón de cerdo triturado

Infasurf® - extraído del fluido de lavado de pulmón de ternera

10 Survanta® - extraído de pulmón triturado de vaca con más DPPC, ácido palmítico y tripalmitina

Exosurf®, Curosurf®, Infasurf® y Survanta® son los tensioactivos actualmente autorizados por la FDA para su uso en Estados Unidos.

El transportador farmacéutico también puede incluir uno o más agentes estabilizantes o agentes dispersantes. El transportador farmacéutico también puede incluir uno o más reguladores del pH, o tampones. Los tampones adecuados incluyen sales orgánicas preparadas a partir de ácidos y bases orgánicos, tales como citrato sódico o ascorbato de sodio. El transportador farmacéutico también puede incluir una o más sales, tales como cloruro de sodio o cloruro de potasio.

Las formulaciones de polvo seco se preparan de forma típica combinando uno o más principios activos con un transportador farmacéutico. Opcionalmente, se pueden incorporar principios activos adicionales en la mezcla. A continuación, la mezcla se conforma en partículas adecuadas para la administración pulmonar usando técnicas conocidas en la materia, tales como liofilización, secado por pulverización, aglomeración, revestimiento mediante pulverización, procedimientos de extrusión, formación de partículas de masa fundida, formación de partículas con separación de fases (formación espontánea de partículas en emulsión, formación de partículas por evaporación del disolvente, y formación de partículas por eliminación del disolvente), coacervación, moldeo a baja temperatura, trituración, molienda (por ejemplo, molienda de atrición con aire (molienda por chorro), molienda con bolas),

homogeneización de alta presión, y/o cristalización de fluidos supercríticos.

El procedimiento adecuado de formación de partículas se puede seleccionar dependiendo del tamaño de partícula deseado, de la distribución del tamaño de partículas, y de la morfología de las partículas. En algunos casos, el procedimiento de formación de partículas se selecciona de forma que produzca una población de partículas con el tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partículas deseado para administración pulmonar. Como alternativa, el procedimiento de formación de partículas puede producir una población de partículas de las que se aísla una población de partículas con el tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partículas deseado para la administración pulmonar, por ejemplo, mediante tamizado.

Es sabido en la técnica que la morfología de las partículas afecta a la profundidad de penetración de una partícula en el pulmón, así como una captación de las partículas de fármaco. Como se ha analizado anteriormente, las partículas de fármaco deberán alcanzar los alvéolos para maximizar la eficacia terapéutica. En consecuencia, las formulaciones de polvo seco se procesan para conseguir partículas que tengan el diámetro aerodinámico promedio en masa (MMAD) adecuado, densidad compactada, y rugosidad superficial para conseguir la administración del uno o más principios activos al pulmón profundo. Las morfologías de partículas preferidas para su administración al pulmón profundo son conocidas en la técnica, y se describen, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos n.º 7.052.678 de Vanbever, y *col.*

Las partículas que tienen un diámetro aerodinámico promedio en masa (MMAD) de más de 5 micrómetros por lo general no llegan al pulmón; en su lugar, tienden a impactar en la parte posterior de la garganta y se tragan. Las partículas que tienen diámetros de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 micrómetros son lo suficientemente pequeñas para alcanzar la región pulmonar superior o central (vías respiratorias conductoras), pero pueden ser demasiado grandes para alcanzar los alvéolos. Las partículas más pequeñas, (es decir, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3 micrómetros), pueden alcanzar eficazmente la región alveolar. Las partículas que tienen diámetros menores de aproximadamente 0,5 micrómetros también se pueden depositar en la región alveolar por sedimentación, aunque las partículas muy pequeñas se pueden exhalar.

El intervalo de tamaño de partícula preciso para su administración eficaz en la región alveolar dependerá de diferentes factores, incluida la densidad compactada de las partículas a suministrar. En términos generales, a medida que disminuye la densidad compactada, el MMAD de las partículas que pueden alcanzar eficazmente la región alveolar de los pulmones aumenta. Por lo tanto, en casos de partículas con bajas densidades adecuadas, las partículas que tienen diámetros de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 micrómetros, de aproximadamente 5 a aproximadamente 7 micrómetros, o de aproximadamente 7 a aproximadamente 9,5 micrómetros, se pueden administrar eficazmente a los pulmones. El diámetro aerodinámico preferido para una deposición máxima dentro de los pulmones se puede calcular. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 7.052.678 de Vanbever, y *col.*

En algunas realizaciones, la formulación de polvo seco se compone de una pluralidad de partículas que tiene un

diámetro aerodinámico promedio en masa comprendido de 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros, más preferentemente de aproximadamente 0,5 micrómetros a aproximadamente 7 micrómetros, lo más preferido de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 micrómetros. En algunas realizaciones, la formulación de polvo seco se compone de una pluralidad de partículas que tiene un diámetro aerodinámico promedio en masa comprendido de 0,5 a aproximadamente 3 micrómetros. En algunas realizaciones, la formulación de polvo seco se compone de una pluralidad de partículas que tiene un diámetro aerodinámico promedio en masa comprendido de 3 a aproximadamente 5 micrómetros. En algunas realizaciones, la formulación de polvo seco se compone de una pluralidad de partículas que tiene un diámetro aerodinámico promedio en masa comprendido de 5 a aproximadamente 7 micrómetros. En algunas realizaciones, la formulación de polvo seco se compone de una pluralidad de partículas que tiene un diámetro aerodinámico promedio en masa comprendido de 7 a aproximadamente 9,5 micrómetros.

En algunos casos, puede existir alguna ventaja al suministrar partículas mayores de aproximadamente 3 micrómetros de diámetro. La fagocitosis de las partículas mediante los macrófagos alveolares disminuye mucho a medida que aumenta el diámetro de la partícula a partir de aproximadamente 3 micrómetros. Kawaguchi, H., y col., *Biomaterials* 7: 61-66 (1986); y Rudt, S. y Muller, R. H., *J. Contr. Rel.* 22: 263-272 (1992). Al administrar partículas con un volumen aerodinámico mayor de 3 micrómetros, la fagocitosis fagocítica por los macrófagos alveolares y el aclaramiento desde los pulmones, se puede minimizar.

En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 % de las partículas en la formulación de polvo seco tienen un diámetro aerodinámico de menos de aproximadamente 10 micrómetros, más preferentemente menos de aproximadamente 7 micrómetros, lo más preferentemente aproximadamente 5 micrómetros. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 %, de las partículas en la formulación de polvo urbano tienen un diámetro aerodinámico de menos de aproximadamente 0,5 micrómetros. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 %, de las partículas en la formulación de polvo seco tienen un diámetro aerodinámico de menos de aproximadamente 0,1 micrómetros.

En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 %, de las partículas en la formulación de polvo seco tienen un diámetro aerodinámico mayor de, aproximadamente 0,5 micrómetros y menos de aproximadamente 10 micrómetros, más preferentemente más de aproximadamente 0,5 micrómetros y menos de aproximadamente 7 micrómetros, lo más preferentemente más de aproximadamente 0,5 micrómetros y menos de aproximadamente 5 micrómetros. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 % de las partículas en la formulación de polvo seco tienen un diámetro aerodinámico de menos de aproximadamente 0,5 micrómetros y menos de aproximadamente 3 micrómetros. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 % de las partículas en la formulación de polvo seco tienen un diámetro aerodinámico de menos de aproximadamente 3 micrómetros y menos de aproximadamente 5 micrómetros. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 % de las partículas en la formulación de polvo seco tienen un diámetro aerodinámico de menos de aproximadamente 5 micrómetros y menos de aproximadamente 7 micrómetros. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, lo más preferentemente al menos aproximadamente un 95 % de las partículas en la formulación de polvo seco tienen un diámetro aerodinámico de menos de aproximadamente 7 micrómetros y menos de aproximadamente 9,5 micrómetros.

En algunas realizaciones, las partículas tienen una densidad compactada de menos de aproximadamente 0,4 g/cm³, más preferentemente menos de aproximadamente 0,25 g/cm³, lo más preferentemente menos de aproximadamente 0,1 g/cm³. Los rasgos que pueden contribuir a una baja densidad compactada incluyen una textura irregular de la superficie y una estructura porosa.

En algunos casos, las partículas son de forma esférica u ovoidea. Las partículas pueden tener una textura superficial lisa o rugosa. Las partículas también pueden estar revestidas con un polímero u otro material adecuado para controlar la liberación de uno o más principios activos en los pulmones.

Las formulaciones de polvo seco se pueden administrar como polvo seco usando procedimientos adecuados conocidos en la técnica. Como alternativa, las formulaciones de polvo seco se pueden suspender en formulaciones líquidas descritas a continuación, y administrarse a los pulmones usando procedimientos conocidos en la técnica para la administración de formulaciones líquidas.

2. Formulaciones líquidas

Las formulaciones líquidas contienen uno o más compuestos disueltos o suspendidos en un transportador farmacéutico líquido.

Los transportadores líquidos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, agua destilada, agua desionizada, agua pura o ultrapura, suero salino, y otras soluciones acuosas fisiológicamente aceptables que contengan sales y/o tampones, tales como suero salino tamponado con fosfato (PBS), solución de Ringer y cloruro de sodio isotónico, o cualquier otra solución acuosa aceptable para su administración a un animal o ser humano.

- 5 Preferentemente, las formulaciones líquidas son isotónicas con respecto a los fluidos fisiológicos y de aproximadamente el mismo pH, comprendido, por ejemplo, de aproximadamente pH 4,0 a aproximadamente pH 7,4, más preferentemente de aproximadamente pH 6,0 a aproximadamente pH 7,0. El transportador farmacéutico líquido puede incluir uno o más tampones fisiológicamente compatibles, tales como tampones fosfato. Un experto en la materia puede determinar fácilmente un contenido salino y un pH adecuados para una solución acuosa destinada a la administración pulmonar.

Las formulaciones líquidas pueden incluir uno o más agentes de suspensión, tales como derivados de celulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto, o lecitina. Las formulaciones líquidas pueden incluir también uno o más conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo.

- 15 En algunos casos, la formulación líquida puede contener uno o más disolventes que son disolventes residuales orgánicos de clase 3 (es decir, no acuosos) de baja toxicidad, tales como etanol, acetona, acetato de etilo, tetrahidrofurano, éter etílico, y propanol. Estos disolventes se pueden seleccionar según su capacidad para aerosolizar rápidamente la formulación. Cualquiera de estos disolventes incluidos en la formulación líquida no debe reaccionar de forma perjudicial con el uno o más principios activos presentes en la formulación líquida. El disolvente debería ser lo suficientemente volátil para permitir la formación de un aerosol de la solución o suspensión. Disolventes o agentes aerosolizantes adicionales, tales como freón, alcohol, glicol, poliglicol, o ácido graso, también se pueden incluir en la formulación líquida según se desee para aumentar la volatilidad y/o alterar el comportamiento de aerosolización de la solución o suspensión.

- 20 Las formulaciones líquidas pueden incluir también cantidades poco importantes de polímeros, tensioactivos, o de otros excipientes bien conocidos en la materia. En este contexto, "cantidades poco importante" significa que no hay presencia de excipientes que pudieran afectar negativamente la captación del uno o más principios activos en los pulmones.

3. Formulaciones en aerosol

- 30 Las formulaciones de polvo seco y líquidas anteriormente descritas se pueden usar para conformar formulaciones en aerosol para administración pulmonar. Los aerosoles para la administración de agentes terapéuticos al tracto respiratorio son conocidos en la técnica. El término aerosol, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier preparación de una niebla fina de partículas sólidas o líquidas suspendidas en un gas. En algunos casos, el gas puede ser un propulsor; sin embargo, esto no es necesario. Los aerosoles se pueden producir usando numerosas técnicas convencionales, que incluyen la ultrasonificación o el tratamiento a lata presión.

- 35 Preferentemente, una formulación de polvo seco o líquida como se ha descrito anteriormente se formula en las formulaciones en aerosol usando uno o más propulsores. Los propulsores adecuados incluyen aire, hidrocarburos, tales como pentano, isopentano, butano, isobutano, propano y etano, dióxido de carbono, clorofluorocarbonos, fluorocarbonos, y combinaciones de los mismos. Los fluorocarbonos adecuados incluyen fluorocarbonos que contienen 1-6 átomos de hidrógeno, tales como CHF_2CHF_2 , $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{F}$, $\text{CH}_2\text{F}_2\text{CH}_3$ y $\text{CF}_3\text{CHF}_2\text{CF}_3$, así como éteres fluorados tales como $\text{CF}_3\text{-O-CF}_3$, $\text{CF}_2\text{H-O-CHF}_2$ y $\text{CF}_3\text{-CF}_2\text{-O-CF}_2\text{-CH}_3$. Los fluorocarbonos adecuados también incluyen perfluorocarbonos, tales como los perfluorocarbonos de 1-4 átomos de carbono que incluyen CF_3CF_3 , $\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CF}_3$ y $\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$.

Preferentemente, los propulsores incluyen, aunque no de forma limitativa, uno o más hidrofluoroalcanos (HFA). Los propulsores de HFA adecuados, incluyen pero no se limitan a, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano (HFA 227), 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134) 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (Propulsor 227), o cualquier mezcla de estos propulsores.

- 45 Preferentemente, el uno o más propulsores tienen suficiente presión de vapor para convertirlos en eficaces como propulsores. Preferentemente, el uno o más propulsores se seleccionan de forma que la densidad de la mezcla se corresponde con la densidad de las partículas en la formulación en aerosol para minimizar la sedimentación o la formación de nata de las partículas en la formulación en aerosol.

- 50 El propulsor está preferentemente presente en una cantidad suficiente para impulsar una pluralidad de las dosis seleccionadas de la formulación en aerosol desde un bote de aerosol.

4. Dispositivos para administración pulmonar

En algunos casos, se utiliza un dispositivo para administrar las formulaciones a los pulmones. Los dispositivos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, inhaladores de polvo seco, inhaladores presurizados de dosis medida, nebulizadores, y dispositivos de aerosol electrohidrodinámicos.

- 55 La inhalación se puede producir a través de la nariz y/o la boca del paciente. La administración se puede realizar

mediante autoadministración de la formulación durante la inhalación, o mediante la administración de la formulación mediante un respirador a un paciente conectado a un respirador.

Inhaladores de polvo seco

5 Las formulaciones de polvo seco anteriormente descritas se pueden administrar a los pulmones de un paciente usando un inhalador de polvo seco (DPI). Los dispositivos DPI suelen incluir un mecanismo, tal como una expulsión de gas, para crear una nube de polvo seco en el interior del recipiente, que a continuación puede inhalar el paciente.

10 En un inhalador de polvo seco, la dosis a administrar se almacena en la forma de un polvo seco no presurizado y, tras el accionamiento del inhalador, el sujeto inhala las partículas de polvo. En algunos casos, se puede usar un gas comprimido (es decir, el propulsor) para dispensar el polvo, análogamente a los inhaladores presurizados de dosis medida (pMDI). En algunos casos, el DPI puede estar accionado por la respiración, lo que significa que se crea un aerosol en respuesta precisa a la inspiración. De forma típica, los inhaladores de polvo seco administran una dosis de menos de unas pocas decenas de miligramos por inhalación para evitar provocar la tos.

15 Los DPI funcionan según una variedad de medios mecánicos para administrar formulaciones a los pulmones. En algunos DPI, un bistrú u obturador se desliza a través de la formulación de polvo seco contenida en un depósito, dirigiendo la formulación a un paso de flujo mediante el cual el paciente puede inhalar el polvo en una sola respiración. En otros DPI, la formulación de polvo seco se envasa en una forma de dosificación preconformada, tal como un envase blíster, tábula, comprimido, o cápsula de gelatina, que se perfora, tritura, o desprecinta de otra forma para liberar la formulación de polvo seco al interior de un paso de flujo para la posterior inhalación. Otros DPI adicionales liberan la formulación de polvo seco dentro de una cámara o cápsula y utilizan agitadores mecánicos o eléctricos para mantener la formulación de polvo seco suspendida en el aire hasta que el paciente inhala.

20 Las formulaciones de polvo seco se pueden envasar de diferentes formas, tales como polvo suelto, torta, o forma comprimida para su inserción en el depósito de un DPI.

25 Los ejemplos de DPI adecuados para la administración de las formulaciones anteriormente descritas incluyen el inhalador Turbohaler® (Astrazeneca, Wilmington, Del.), el inhalador Clickhaler® (Innovata, Riddington, Nottingham, Reino Unido), el inhalador Diskus® (Glaxo, Greenford, Middlesex, Reino Unido), el EasyHaler® (Orion, Espoo, FI), el inhalador Exubera® (Pfizer, Nueva York, N.Y.), el inhalador Qdose® (Microdose, Monmouth Junction, N.J.), y el inhalador Spiros® (Dura, San Diego, Calif.).

Inhaladores presurizados de dosis medida

30 Las formulaciones líquidas anteriormente descritas se pueden administrar a los pulmones de un paciente usando un inhalador presurizado de dosis medida (pMDI).

35 Los inhaladores presurizados de dosis medida (pMDIs) incluyen por lo general al menos dos componentes: un bote, en el que se mantiene la formulación líquida bajo presión junto con uno o más propulsores, y un receptáculo utilizado para sujetar y accionar el bote. El bote puede contener una única dosis, o múltiples dosis, de la formulación. El bote puede incluir una válvula, de forma típica una válvula dosificadora, desde la cual se puede descargar el contenido del bote. El fármaco aerosolizado se dispensa desde el pMDI aplicando una fuerza sobre el bote para empujarlo hacia el receptáculo, abriendo de esta forma la válvula y haciendo que las partículas de fármaco se transporten desde la válvula hasta la salida del receptáculo. Tras su descarga desde el bote, la formulación líquida se atomiza, formando un aerosol.

40 Los pMDIs utilizan de forma típica uno o más propulsores para presurizar el contenido del bote e impulsar la formulación líquida por la salida del receptáculo, expandiendo un aerosol. Se puede utilizar cualquier propulsor adecuado, incluidos los anteriormente descritos. El propulsor puede adoptar una variedad de formas. Por ejemplo, el propulsor puede ser un gas comprimido o un gas licuado. Los clorofluorocarbonos (CFC) se utilizaban habitualmente en el pasado como propulsores líquidos, pero ahora están prohibidos. Se han sustituido por los actualmente ampliamente aceptados hidrofluoroalcanos (HFA) propulsores.

45 Los pMDI están comercialmente disponibles de numerosos proveedores, incluidas 3M Corporation, Aventis, Boehringer Ingelheim, Forest Laboratories, Glaxo-Wellcome, Schering Plough y Vectura. En algunos casos, el paciente administra una formulación aerosolizada descargando manualmente la formulación aerosolizada desde el pMDI de forma coordinada con la inspiración. De esta forma, la formulación aerosolizada se arrastra junto con el flujo de aire entrante y se transporta a los pulmones.

50 En otros casos, un disparador accionado por la respiración, tal como el incluido en el inhalador Tempo® (MAP Pharmaceuticals, Mountain View, Calif.) es de utilidad, que descarga simultáneamente una dosis de la formulación tras detectar la inhalación. Estos dispositivos, que descargan la formulación en aerosol cuando el usuario empieza a inhalar, se conocen como inhaladores presurizados de dosis medida accionados por la respiración (baMDI).

Nebulizadores

Las formulaciones líquidas anteriormente descritas se pueden administrar también utilizando un nebulizador. Los

nebulizadores son generadores de aerosoles líquido que transportan la formulación líquida descrita, normalmente composiciones de base acuosa, en forma de nieblas o nubes de gotículas pequeñas, preferentemente con diámetros aerodinámicos promedio en masa menores de 5 micrómetros, que se pueden inhalar en el tracto respiratorio inferior. Este procedimiento se denomina atomización. Las gotículas transportan el uno o más principios activos al interior de la nariz, vías respiratorias superiores o pulmones profundos cuando se inhala la nube de aerosol. Se puede usar cualquier tipo de nebulizador para administrar la formulación a un paciente, que incluyen, aunque no de forma limitativa, nebulizadores neumáticos (de chorro) y nebulizadores electromecánicos.

Los nebulizadores neumáticos (de chorro) utilizan un suministro presurizado como fuerza impulsora para atomizar la formulación líquida. El gas comprimido se suministra mediante una boquilla o chorro para crear un campo de baja presión que arrastra una formulación líquida circundante y la rompe en una película fina o filamentos. La película o los filamentos son inestables, y se descomponen en gotículas pequeñas que se transportan mediante el flujo de gas comprimido a la inspiración respiratoria. Deflectores insertados en la pluma de gotículas se paran a modo de criba las gotículas más grandes y las devuelven al depósito del líquido a granel. Los ejemplos de nebulizadores neumáticos incluyen, aunque no de forma limitativa, PARI LC Plus®, PARI LC Sprint®, Devilbiss PulmoAide®, y Boehringer Ingelheim Respima®.

Los nebulizadores electromecánicos utilizan fuerza mecánica generada eléctricamente para atomizar formulaciones líquidas. La fuerza de impulsión electromecánica se puede aplicar, por ejemplo, haciendo vibrar la formulación líquida a frecuencias ultrasónicas, o forzando el líquido a granel a pasar por orificios pequeños en una película fina. Las fuerzas generan delgadas películas o corrientes filamentosas de líquido que se descomponen formando gotículas que forman una corriente de aerosol que se desplaza lentamente y se puede arrastrar mediante el flujo de la inspiración.

En algunos casos, el nebulizador electromecánico es un nebulizador ultrasónico, en el que la formulación líquida se acopla a un vibrador que oscila a frecuencias en el intervalo ultrasónico. El acoplamiento se consigue poniendo el líquido en contacto directo con el vibrador, tal como una placa o anillo en una copa de soporte, o introduciendo gotículas grandes en un proyector vibrador sólido (un cuerno). Las vibraciones generan películas estacionarias circulares que se descomponen formando gotículas en sus bordes para atomizar la formulación líquida. Los ejemplos de nebulizadores ultrasónicos incluyen DuroMist®, Drive Medical Beetle Neb®, Octive Tech Densylogic®, y John Bunn Nano-Sonic®.

En algunos casos, el nebulizador electromecánico es un nebulizador de niebla, en el que la formulación líquida se impulsa a través de una malla o membrana con pequeños orificios con diámetro comprendido entre 2 y 8 micrómetros, para generar filamentos finos que se descomponen formando gotículas pequeñas. En algunos diseños, la formulación líquida se fuerza a través de la malla aplicando presión con un impulsor de pistón solenoide (por ejemplo, el nebulizador AERx®) o intercalando el líquido entre una placa vibrada piezoeléctricamente y la malla, que da como resultado una acción de bombeo oscilatoria (por ejemplo, los nebulizadores EFlow®, AerovectRx®, o TouchSpray®). En otros casos, la malla vibra hacia delante y hacia atrás a través de una columna estacionaria de líquido para bombearla a través de los orificios. Los ejemplos de dichos nebulizadores incluyen los AeroNeb Go®, AeroNeb Pro®, PARI EFlow®, Omron 22UE®; y Aradigm AERx®.

Dispositivos de aerosol electrohidrodinámicos

Las formulaciones líquidas anteriores también se pueden administrar usando un dispositivo de aerosol electrodinámico. Los dispositivos de aerosol EUD utilizan energía eléctrica para aerosolizar soluciones o suspensiones de fármaco líquido. Los ejemplos de dispositivos de aerosol EHD son conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 4.765.539 de Noakes y col. y la patente de los Estados Unidos N.º 4.962.885 de Coffee, R.A.

Las propiedades electroquímicas de la formulación pueden ser parámetros importantes a optimizar cuando se administra la formulación líquida al pulmón desde un dispositivo de aerosol MD y el experto en la técnica realiza rutinariamente dicha optimización.

V. Compuestos y formulaciones para su uso en tratamiento

Las formulaciones farmacéuticas que contienen uno o más de compuestos descritos en el presente documento se pueden administrar para inducir la pérdida de peso en un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida, reducir la grasa corporal en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, reducir la ingesta de alimento en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, mejorar la homeostasia de la glucosa en un paciente preobeso, obeso o con obesidad mórbida, evitar el aumento de peso y/o prevenir un aumento en el índice de masa corporal en un paciente normal, paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida, o combinaciones de las mismas.

En ciertas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas son para su administración a un paciente que padece obesidad (por ejemplo, un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida), una enfermedad o trastorno relacionado con la obesidad, diabetes, síndrome de resistencia a la insulina, lipodistrofia, esteatohepatitis no alcohólica, una enfermedad cardiovascular, síndrome de ovario poliquístico, o un síndrome metabólico.

Cuando las formulaciones farmacéuticas son para su administración para normalizar el azúcar en sangre, las

formulaciones farmacéuticas se administran preferentemente en una cantidad eficaz para disminuir los niveles de glucosa en sangre a menos de aproximadamente 180 mg/dl. Las formulaciones pueden administrarse simultáneamente con otros tratamientos antidiabéticos, si es necesario, para mejorar la homeostasia de la glucosa.

- 5 Las formulaciones farmacéuticas también pueden ser para su administración a pacientes que padecen una enfermedad o trastorno que produce obesidad o predispone a un paciente a volverse obeso, tal como el síndrome de Bardet-Biedl o una mutación en el gen que codifica la proteína del receptor de melanocortina 4 (MC4R) (es decir, una mutación MC4R).

A. Dosificaciones

- 10 La dosificación precisa para su administración a un paciente dependerá de muchos factores, entre los que se incluyen las características físicas del paciente (por ejemplo, peso), el grado de gravedad de la enfermedad o trastorno a tratar, y la presencia o ausencia de otras enfermedades o trastornos que supongan una complicación, y el médico a cargo del tratamiento puede determinarla con facilidad.

- 15 En ciertas realizaciones, el compuesto es para su administración a una dosificación equivalente a una dosis oral comprendida entre aproximadamente 0,005 mg y aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal y día, más preferentemente entre aproximadamente 0,05 mg y aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal y día, lo más preferentemente entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal y día. En realizaciones particulares, el compuesto es para su administración a una dosis oral comprendida entre aproximadamente 1,0 mg y 5,0 mg por kg de peso corporal y día.

- 20 En algunos casos, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para inducir la pérdida de peso. En ciertas realizaciones, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para disminuir la masa corporal en al menos un 10 %, más preferentemente en al menos un 15 %, lo más preferente en al menos un 20 %.

- 25 En algunos casos, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para reducir la grasa corporal. En ciertas realizaciones, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para disminuir la grasa corporal en al menos un 10 %, más preferentemente en al menos un 15 %, lo más preferente en al menos un 20 %.

- 30 En algunos casos, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para reducir la ingesta de alimento, el apetito, o combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para reducir la ingesta de alimento diaria (en términos de calorías) en al menos un 15 %, más preferentemente en al menos un 25 %, lo más preferente en al menos un 35 %.

- 35 En algunos casos, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para mejorar la homeostasia de la glucosa. En ciertas realizaciones, una formulación farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos es para su administración administra a un paciente preobeso, obeso, o con obesidad mórbida en una cantidad terapéuticamente eficaz para reducir los niveles de glucosa en plasma sanguíneo en al menos un 10 %, más preferentemente en al menos un 15 %, lo más preferente en al menos un 20 %. Cuando las formulaciones farmacéuticas son para su administración para normalizar el azúcar en sangre, las formulaciones son preferentemente para su administración en una cantidad eficaz para disminuir los niveles de glucosa en plasma sanguíneo hasta menos de aproximadamente 180 mg/dl, más preferentemente menos de aproximadamente 160 mg/dl, más preferentemente menos de aproximadamente 140 mg/dl.

B. Administración terapéutica

- 50 Las formulaciones farmacéuticas pueden ser para su administración, por ejemplo, en una sola dosificación, como dosificación continua, una o más veces al día, o con menos frecuencia, tal como una vez a la semana. Las formulaciones farmacéuticas pueden ser para su administración una vez al día o más de una vez al día, tal como dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día o más. En ciertas realizaciones, las formulaciones son para su administración por vía oral, una vez al día o menos.

- 55 Las formulaciones farmacéuticas son para su administración en una cantidad eficaz y durante un periodo de tiempo eficaz para desencadenar el beneficio terapéutico deseado. En ciertas realizaciones, la formulación farmacéutica es para su administración diariamente, quincenalmente, semanalmente, bimensualmente o mensualmente durante un periodo de al menos una semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, un mes, dos meses, tres meses,

cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, diez meses, once meses, un año, o más tiempo.

Las formulaciones farmacéuticas también pueden ser para su administración profilácticamente, por ejemplo, a pacientes o sujetos que están en riesgos de una enfermedad o trastorno tales como la diabetes o la obesidad. Por lo tanto, esto también pueden implicar la identificación de un sujeto en riesgo de diabetes u obesidad antes de la administración de las formulaciones.

La cantidad exacta de las formulaciones necesaria variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad, el sexo, el peso y el estado general del sujeto, la extensión de la enfermedad en el sujeto, la vía de administración, si se incluyen otros fármacos en el régimen, y similares. Por lo tanto, no es posible especificar una dosificación exacta para cada formulación. Sin embargo, el experto en la técnica puede determinar la dosificación adecuada usando solamente experimentación rutinaria. Por ejemplo, las dosificaciones eficaces y los calendarios de administración de las composiciones se pueden determinar empíricamente, y la realización de dichas determinaciones es una capacidad de la técnica.

La dosificación puede variar, y se pueden administrar en una o más administraciones de las dosis diarias, durante uno o varios días. En la literatura se pueden encontrar directrices de las dosificaciones adecuadas para las clases dadas de productos farmacéuticos.

1. Coadministración con principios activos

En otras realizaciones, los compuestos desvelados en el presente documento pueden ser para su coadministración con uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos adicionales. La coadministración, como se usa en el presente documento, incluye la administración dentro de la misma forma de dosificación, o en diferentes formas de dosificación. Para aquellas realizaciones donde los compuestos descritos en el presente documento y el uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos adicionales se administren en formas de dosificación diferentes, las formas de dosificación se pueden administrar de forma simultánea (por ejemplo, al mismo tiempo o esencialmente al mismo tiempo) o de forma secuencial. "Esencialmente al mismo tiempo", como se usa en el presente documento, significa generalmente en un intervalo de diez minutos, preferentemente en un intervalo de cinco minutos, más preferentemente en un intervalo de dos minutos, lo más preferentemente en un intervalo de un minuto. Las formas de dosificación administradas secuencialmente se pueden administrar en un intervalo de varias horas entre sí, por ejemplo, en un intervalo de diez horas, nueve horas, ocho horas, siete horas, seis horas, cinco horas, cuatro horas, tres horas, dos horas, una hora, 30 minutos, 20 minutos, o 15 minutos.

En ciertas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento son para su coadministración con leptina o un análogo de leptina. En estos casos, la leptina o un análogo de leptina se pueden coadministrar con los compuestos durante una parte del periodo de tratamiento, o durante la totalidad del periodo de tratamiento. En realizaciones preferidas, los compuestos se coadministran con r-metHuLeptin (A-100, METRELEPTIN®), disponible de Amylin Pharmaceuticals (San Diego, Calif.).

En ciertas realizaciones, los pacientes tienen diabetes. En estos casos, los compuestos de pérdida de peso descritos en el presente documento se coadministran con una o más terapias para la diabetes.

Ejemplos

Ejemplo de referencia 1: Administración de celastrol a ratones obesos

El celastrol se obtuvo de fuentes comerciales. Los ratones C57B1/6J se pusieron con una dieta rica en grasa (HFD; Research Diets, D12451, 45 % de kcal de grasa) alimentándolos durante 16 semanas. Tras el establecimiento de la obesidad y de la resistencia a la leptina, los ratones recibieron en primer lugar celastrol a diferentes dosis (10, 50 y 100 µg/kg), en 25 µl de DMSO, una vez al día y vehículo (DMSO, 25 µl) con inyección intraperitoneal (i.p.). Los animales tuvieron acceso libre al alimento y al agua salvo que se indicara otra cosa.

En todos los experimentos, cuatro días antes de la administración del fármaco, los animales pasaron por un periodo de aclimatación en el que se les administró suero salino (25 µl) para reducir el efecto del estrés creado por la inyección i.p. Tras cuatro días de aclimatación, se administró celastrol a ratones obesos alimentados con dieta HFD diariamente con inyección i.p. a dosis crecientes (10, 50 y 100 µg/kg) durante tres semanas en 25 µl de DMSO. Un grupo de control recibió el mismo volumen de DMSO con inyección i.p.

Tal como se muestra en la Figura 1A, la administración i.p. de celastrol disminuyó significativamente el peso corporal (Figura 1A, $p < 0,001$, 100 µg/kg; Figura 1B $p < 0,05$, 10 µg/kg; $p < 0,001$, 50 y 100 µg/kg) y la ingesta de alimento (Figura 1C, $p < 0,01$, tres días de promedio dentro de la primera semana de administración del fármaco) de ratones obesos alimentados con dieta HFD de una forma dependiente de la dosis. En el día 14 del ensayo, los investigadores midieron la glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno de los ratones. Como se muestra en la Figura 1D, celastrol disminuyó la glucosa en sangre de ratones obesos.

Ejemplo de referencia 2: Administración de celastrol a ratones magros

Se administró celastrol a ratones magros alimentados con pienso a 50, 100 o 500 µg/kg durante tres semanas con inyección i.p.s usando el mismo protocolo descrito anteriormente. Como se muestra en la Figura 2A y la Figura 2B, celastrol indujo una disminución significativa pero pequeña en la ingesta de alimento; sin embargo, no indujo la pérdida de peso corporal en ratones magros, incluso cuando se administró a los ratones magros en dosis hasta cinco veces mayores que las eficaces para reducir el peso corporal en ratones obesos. Estos hallazgos sugieren que el efecto anoréctico de celastrol está limitado a animales obesos. En ratones magros, solamente la dosis más alta estudiada (500 µg/kg) indujo una disminución significativa en la glucosa en sangre (Figura 2C, $p < 0.05$) después de 2 semanas de inyecciones de fármaco.

Otros compuestos de la invención se sometieron a ensayo de forma similar.

En combinación, estos hallazgos sugieren que el celastrol se puede administrar en una cantidad eficaz (por ejemplo, 100 µg/kg en estos estudios) para inducir la pérdida de peso corporal en ratones obesos, pero no en ratones magros.

Ejemplo de referencia 3: Examen de la dependencia de leptina sobre la actividad del celastrol.

Celastrol (100 µg/kg, una vez al día, en 25 µl de DMSO) se administró a ratones deficientes en leptina (*ob/ob*) y deficientes en el receptor de leptina (*db/db*) como modelos de obesidad. Ninguno de estos modelos mostró una disminución significativa en el apetito tras la administración del celastrol (ratones *ob/ob*, Figura 3; ratones *db/db*, Figura 4). En los ratones *ob/ob* y *db/db*, el peso corporal continuó aumentando de forma similar al grupo de control (tratados con vehículo) (*ob/ob*, Figura 3A; *db/db* Figura 4A). Además, celastrol no consiguió disminuir la glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno en ninguno de los ratones *ob/ob* (Figura 3C), o *db/db* (Figura 4C) después de 2 semanas de inyecciones de fármaco.

Otros compuestos de la invención se sometieron a ensayo de forma similar.

También se estudió la capacidad del celastrol para ejercer efectos antiobesidad cuando se administra por vía oral. Celastrol indujo una disminución sólida y significativa del peso corporal (Figura 5A, $p < 0.001$), e ingesta de alimento (Figura 5B, $p < 0.001$) en ratones obesos alimentados con dieta HFD cuando se administró por vía oral a 10 mg/kg en una suspensión de captisol. Además, celastrol oral disminuyó los niveles de glucosa en sangre tras 6 horas de ayuno de ratones obesos alimentados con dieta HFD (Figura 5C, $p < 0.001$, la glucosa se redujo a niveles hipoglucémicos). Sin embargo, no se observaron cambios significativos en la ingesta de alimento (Figura 5D) ni en el peso corporal (Figura 5E) cuando los ratones magros se trataron con celastrol por vía oral. A esta dosis, la administración oral de celastrol dio como resultado una disminución pequeña pero significativa de los niveles de glucosa en sangre de ratones magros después de tres semanas de tratamiento (Figura 5F). Por otro lado, los ratones *ob/ob* y *db/db* fueron totalmente insensibles al tratamiento oral con celastrol (Figura 6A-D).

El hecho de que celastrol disminuya el peso corporal y la ingesta de alimento en ratones obesos alimentados con una dieta HFD pero no en ratones *ob/ob* o *db/db* sugiere que el efecto anoréctico de celastrol está mediado a través de la señalización de la leptina. Aunque los ratones obesos alimentados con una dieta HFD tienen niveles elevados de leptina, desarrollan resistencia a la leptina y no responden a la administración de leptina exógena. Por tanto, se teorizó que celastrol ejerce sus efectos antiobesidad a través del aumento de la sensibilidad a la leptina en los cerebros de los ratones obesos alimentados con dieta HFD. Para ensayar esta hipótesis, se administró leptina a animales obesos alimentados con una dieta HFD tratados con celastrol o vehículo. Para evitar cualquier efecto posible sensibilizante de la leptina de pérdida de peso o ingesta de alimento disminuida creado por la administración del celastrol, las inyecciones de leptina se realizaron con tratamiento agudo con celastrol como se describe a continuación.

Ratones magros y obesos alimentados con una dieta HFD se dividieron en cuatro grupos: 1) DMSO+suero salino, 2) DMSO+leptina, 3) celastrol+suero salino y 4) celastrol+leptina ($n=3$ por grupo). Se inyectaron (i.p.) los ratones con 100 µg/kg de celastrol o vehículo (DMSO) una antes del ciclo de oscuridad (día cero). 24 horas después, se inyectaron los ratones una segunda vez con celastrol o DMSO (día 1), y todos los animales se dejaron ayunar durante 24 horas. El día dos, a las 21 horas de ayuno, los ratones recibieron una inyección final de DMSO o celastrol. 30 minutos antes del ciclo de oscuridad, a las 23,5 horas de ayuno, los ratones recibieron una única inyección i.p. de leptina (10 mg/kg, disuelta en suero salino), o suero salino. 30 minutos después (final de las 24 horas de ayuno), se proporcionó a los ratones su dieta anterior (tanto pienso regular como HFD) *ad libitum*. se registraron los cambios a 1, 3, 6, 15 y 24 horas de la ingesta de alimentos y en el peso corporal a las 24 horas (Figura 7A). En el punto temporal de 6 horas, la leptina redujo la ingesta de alimento en aproximadamente un 40 % en los grupos de ratones magros y obesos alimentados con IIFD, ambos tratados con DMSO. Los ratones magros tratados con celastrol mostraron una disminución del 60 % en la ingesta de alimento tras la inyección de leptina, mientras que los ratones con dieta HFD mostraron una disminución del 80 % en la ingesta de alimento tras la inyección de la leptina (Figura 7B). Durante el período de alimentación de 24 horas *ad libitum*, todos los ratones magros y los ratones obesos alimentados con dieta HFD tratados con vehículo aumentaron de peso, mientras que los ratones obesos alimentados con dieta HFD tratados con celastrol siguieron mostrando pérdida de peso. Esta pérdida de peso aumentó adicionalmente (aproximadamente en dos veces) mediante la administración de leptina (Figura 7D). Esto es claramente evidente cuando se calcula la ingesta de alimento de los ratones tratados con celastrol en valores porcentuales (Figura 7B). Además, los ratones obesos alimentados con dieta HFD fueron resistentes al efecto reductor del peso de la leptina hasta que recibieron celastrol (Figura 7D). Cabe destacar que, celastrol en solitario, tal como se esperaba, disminuyó el aumento de peso de ratones

obesos alimentados con RFD en ausencia de administración de leptina exógena, probablemente debido a los niveles ya elevados de leptina en ratones obesos alimentados con IFD.

Para analizar el cambio en la composición corporal durante el tratamiento con celastrol (i.p. 100 µg/kg), la masa magra y la masa grasa de los ratones se midió usando absorciometría de rayos X de emisión doble (DEXA). La masa magra permaneció inalterada después de dos semanas de administración crónica de celastrol (Figura 8A). Esto es consistente con el que celastrol no tenga un efecto tóxico que produzca anorexia, ya que se preservó la masa magra. Sin embargo, la masa grasa y el porcentaje de grasa disminuyeron significativamente en los animales con dieta HFD tratados con celastrol (Figuras 8B-8C). Consistente con la disminución de masa adiposa, se mostró que los niveles de leptina disminuyeron gradualmente durante la administración crónica de celastrol (Figura 5D). Además, la ingesta de alimentos en ratones obesos alimentados con dieta HFD aumentó gradualmente hacia el final del estudio a medida que aumentaban los niveles de leptina endógena. Este hallazgo respalda la hipótesis de que el efecto anoréxico del celastrol es dependiente de la señalización de leptina.

La actividad locomotora también fue normal en los ratones tratados con celastrol. Esto es consistente con el que celastrol no tenga un efecto tóxico que produzca anorexia y pérdida de peso, ya que esto último estaría asociado con una disminución en la actividad locomotora.

Ejemplo de referencia 4: Efecto de la administración de celastrol sobre la homeostasia de la glucosa.

Como se ha descrito anteriormente, la administración de celastrol i.p. y oral da como resultado una disminución sólida en los niveles de glucosa en sangre de ratones obesos alimentados con dieta HFD. Para analizar el efecto de celastrol sobre la homeostasia de la glucosa, se realizaron ensayos de tolerancia a la glucosa (GTT) y ensayos de tolerancia a la insulina (ITT) después de la administración crónica de celastrol i.p. (100 µg/kg).

Para el GTT, los ratones ayunaron durante la noche después de una semana de tratamiento con celastrol y recibieron una inyección i.p. de D-glucosa (0,75 g/kg) por la mañana. Para ITT, después de 16 días de tratamiento con celastrol, se hicieron ayunar los ratones durante 6 horas (desde las 8 a.m. a las 2 p.m.) y se inyectó intraperitonealmente insulina humana recombinante (1 UI/kg de Eli Lilly). En ambos procedimientos, la glucosa en sangre se midió en sangre de la vena de la cola a 0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la inyección.

Como se muestra en la Figura 9A, después de una semana de tratamiento con celastrol, la homeostasia de la glucosa mejoró significativamente en ratones tratados con celastrol cuando se compararon con los ratones tratados con vehículo, como se pone de manifiesto por el área bajo la curva (ABC) de OTT (Figura 9B, $p < 0,001$). El día 16, se realizó el ITT. Los ratones obesos alimentados con dieta HFD también mostraron una sensibilidad mejorada a la insulina (Figuras 9C-9D, $p < 0,01$). Consistente con una homeostasia de glucosa mejorada, los ratones tratados con celastrol mostraron una disminución en la expresión de ARNm hepático de las enzimas gluconeogénicas fosfoenolpiruvato carboxicinas (PEPCK), glucosa 6-fosfatasa (G6Pasa) y coactivador 1-2alfa del receptor gamma activado por el peroxisoma (PGC1a) (Figura 10).

Otros compuestos de la invención se sometieron a ensayo de forma similar.

Ejemplo de referencia 5: Efecto de la administración de celastrol sobre la función del hígado, riñón y tiroides.

Para investigar el efecto de la administración de celastrol sobre la función hepática, se midieron los niveles séricos de alanina transaminasa (ALT) y aspartato transaminasa (AST) en ratones después de tres semanas de tratamiento con celastrol (100 µg/kg, i.p.). ALT y AST se midieron usando un kit de enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) (de Bio Scientific).

Como se muestra en la Figura 11, la administración de celastrol disminuye los niveles de ALT y AST en ratones obesos alimentados con dieta HFD, lo que sugiere una mejora de la función hepática. Este hallazgo se confirmó histológicamente de forma adicional. Tejido hepático recogido de estos ratones se fijó durante la noche en formalina, se cortó, y se tiñó con hematoxilina y eosina (H&E). La hepatosteatoxis en animales obesos con dieta HFD se redujo mediante el tratamiento con celastrol. Las secciones de hígado obtenidas de los ratones tratados con celastrol aparecieron virtualmente idénticas a las de hígados de ratones magros. De manera similar, no se observaron cambios detectables en la morfología renal de estos ratones. Estos resultados indican que el tratamiento con celastrol también reduce la hepatosteatoxis.

Otros compuestos de la invención se sometieron a ensayo de forma similar.

Se sabe que las hormonas tiroideas aumentan la tasa metabólica basal y, por tanto, aumentan el gasto de energía. Se sabe que niveles elevados de hormonas tiroideas disminuyen el peso corporal con diversos efectos secundarios no deseables. Para examinar si las hormonas tiroideas pueden tener un papel en la acción anoréctica del celastrol, los niveles de T3 y T4 en plasma de ratones obesos alimentados con dieta HFD se midieron después de 3 semanas de tratamiento con celastrol (100 µg/kg, i.p.). Las hormonas tiroideas, incluyendo T3 y T4, son conocidas por estar elevadas en animales obesos con dieta HFD.

Como se muestra en la Figura 12, el celastrol disminuye los niveles de T3 y T4 en ratones obesos alimentados con

dieta HFD. Esta disminución es probablemente una consecuencia de la pérdida de peso, y sugiere que el efecto reductor del peso del celastrol no está mediado por un aumento en la actividad de las hormonas tiroideas.

Ejemplo de referencia 6: Preparación y actividad de los derivados de celastrol

- 5 Celastrol es un aceptor de Michael, y puede formar aductos de Michael con nucleófilos, tales como los restos de cisteína de las proteínas. Se prepararon cuatro derivados (mCS1-mCS4) de celastrol que contenían un sustituyente que bloquea la formación de aductos de Michael en la posición reactiva del celastrol (el átomo de carbono C⁶ de la Fórmula 1). Ya no se esperaba que estos derivados actuaran como aceptores de Michael.

Preparación de mCS1

- 10 20 mg (0.0378 mmol) de celastrol se disolvieron en 1 ml de etanol a temperatura ambiente. Se añadieron 50 µl de 2-mercaptoetanol, y la reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Durante el tiempo de reacción, el color de la mezcla de reacción cambió de naranja brillante a incoloro. El consumo completo del material de partida se confirmó mediante CL/EM. A continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida para producir mCS1m1 con rendimiento cuantitativo en forma de una película de color naranja débil. Se puede realizar una purificación adicional en gel de sílice.

Preparación de mCS2

15 10 mg (0.0189 mmol) de celastrol se disolvieron en 1 ml de etanol a temperatura ambiente. Se añadieron 3 mg de cistamina, y la reacción se agitó. Se observó un cambio de color de naranja brillante a casi incoloro en un plazo de 10 min. Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, mCS2 precipitó, se aisló por filtración, y se secó a presión reducida.

Preparación de mCS3

20 10 mg (0.0189 mmol) de celastrol se disolvieron en 1 ml de etanol a temperatura ambiente. Se añadieron 5 µl de ácido 3-mercaptopropiónico, y la reacción se agitó. Se observó un cambio de color de naranja brillante a casi incoloro en un plazo de 1 h de agitación a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida para producir mCS3 con rendimiento cuantitativo en forma de una película de color naranja débil.

Preparación de mCS4

25 10 mg (0.0189 mmol) de celastrol se disolvieron en 1 ml de etanol a temperatura ambiente. Se añadieron 5 mg de D-cisteína, y la reacción se agitó a temperatura ambiente. Se observó un cambio de color de naranja brillante a casi incoloro en un plazo de 1 h de agitación a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida para producir mCS4 con rendimiento cuantitativo en forma de un sólido de color crema.

Actividad de mCS1-mCS4

30 Los cuatro derivados de celastrol (mCS1-mCS4) se administraron a ratones obesos alimentados con dieta HFD (100 µg/kg/día durante 25 días, i.p.). Como se muestra en la Figura 13, mCS1-mCS4 disminuyeron el peso corporal y la ingesta de alimento con una potencia similar a la del celastrol.

Ejemplo de referencia 7: Administración simultánea de celastrol y leptina

- 35 Celastrol y leptina se administraron simultáneamente para disminuir el peso corporal de ratones obesos. Los ratones C57B1/6J se pusieron con una dieta rica en grasa alimentándolos durante 16 semanas. Posteriormente, se administró celastrol (100 µg/kg/día, i.p.) durante un periodo de 40 días.

Otros compuestos de la invención se sometieron a ensayo de forma similar.

- 40 Como se muestra en la Figura 14, el peso corporal de los ratones tratados con celastrol disminuyó gradualmente y alcanzó una meseta aproximadamente en el día 17. En este punto, se administró leptina (1 mg/kg/día, i.p.) a los grupos tanto del control como de celastrol. Como se muestra en la Figura 14, los ratones tratados con celastrol respondieron a la leptina con una disminución del peso corporal, una respuesta que se potenció aumentando las dosis de leptina.

Ejemplo de referencia 8: Administración de celastrol para prevenir la obesidad.

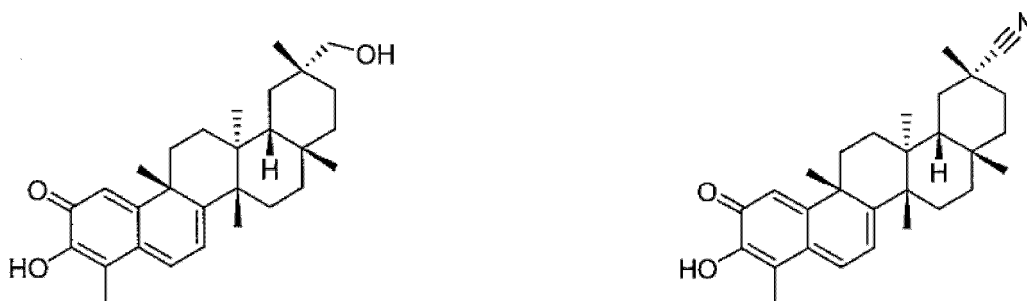
- 45 Se tomaron cuatro grupos de ratones C57BL/6 en el momento del destete a la edad de 3 semanas. Dos de los grupos se pusieron con pienso regular, y dos grupos se pusieron con dieta alta en grasa. Un grupo de cada dieta recibió inyecciones diarias de celastrol (100 µg/kg/día, i.p.), y el otro grupo de cada dieta recibió inyecciones de vehículo (25 µl, DMSO al día, i.p.) como control durante 6 meses. Los pesos corporales se midieron durante la totalidad del estudio y se notificaron en la figura adjunta. Como se muestra en la Figura 15, el grupo con vehículo-HFD desarrollaron obesidad, mientras que el otro grupo no lo hizo.

- 50 Otros compuestos de la invención se sometieron a ensayo de forma similar.

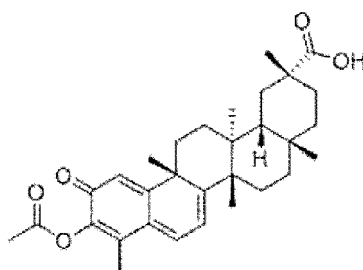
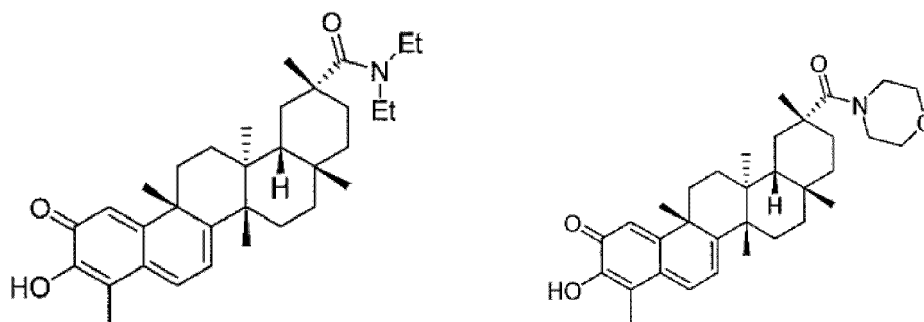
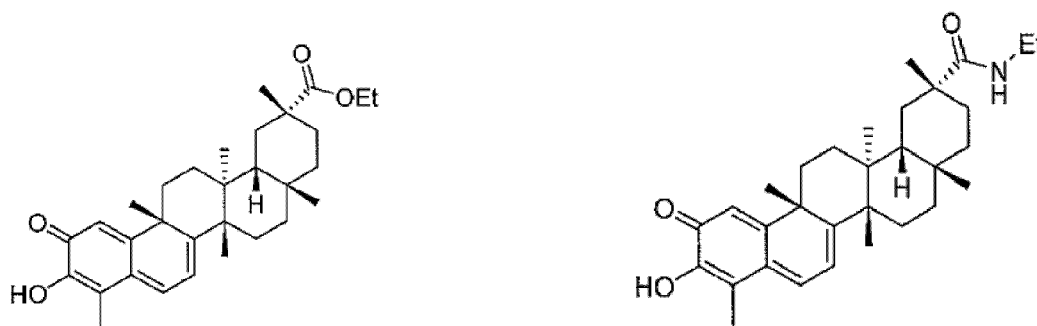
- 5 Las Figuras de referencia 16A y 16B son gráficos que muestran el movimiento deambulatorio en dirección x (Figura 16A) e y (Figura 16B) para el control y el celastrol en 2 ciclos de luz y oscuridad. La toxicidad se evaluó usando el sistema de seguimiento Columbus Instruments Comprehensive Lab Animal, donde los autores midieron la actividad locomotora de los animales. Como se observa en las figuras, el movimiento deambulatorio en dirección x e y contados para los animales durante los ciclos tanto de luz como de oscuridad no son significativamente diferentes. Esto muestra que los ratones tratados con fármaco no están letárgicos, por tanto, no muestran ningún signo visible de enfermedad y toxicidad.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica para su uso en inducir pérdida de peso o reducir la grasa corporal, o una combinación de las mismas, en un paciente pre-obeso, obeso o con obesidad mórbida, en la que la formulación farmacéutica comprende un compuesto que tiene la siguiente estructura:



5



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

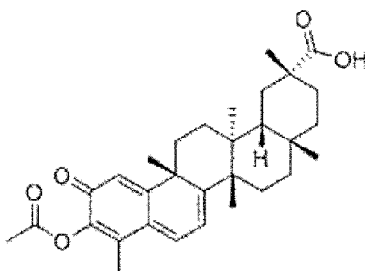
- 10 2. Una formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es para su administración al paciente a una dosis entre 0,005 mg y 500 mg por kg de peso corporal.
3. Una formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto es para su administración al paciente a una dosis entre 0,005 y 100 mg por kg de peso corporal.
- 15 4. Una formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 a 3, en el que el compuesto es para su administración al paciente a una dosis entre 0,005 mg y 10 mg por kg de peso corporal.

5. Una formulación para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el compuesto es para su administración al paciente a una dosis entre 0,05 y 1 mg por kg de peso corporal.

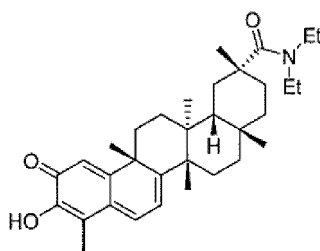
6. Una formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el índice de masa corporal del paciente es mayor de 25 kg/m², mayor de 30 kg/m² o mayor de 40 kg/m².

5 7. Una formulación para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la formulación farmacéutica es para su administración conjunta con leptina.

8. Una formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto tiene la siguiente estructura:

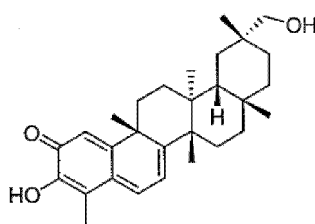


9. Una formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto tiene la siguiente estructura:



10

10. Una formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto tiene la siguiente estructura:



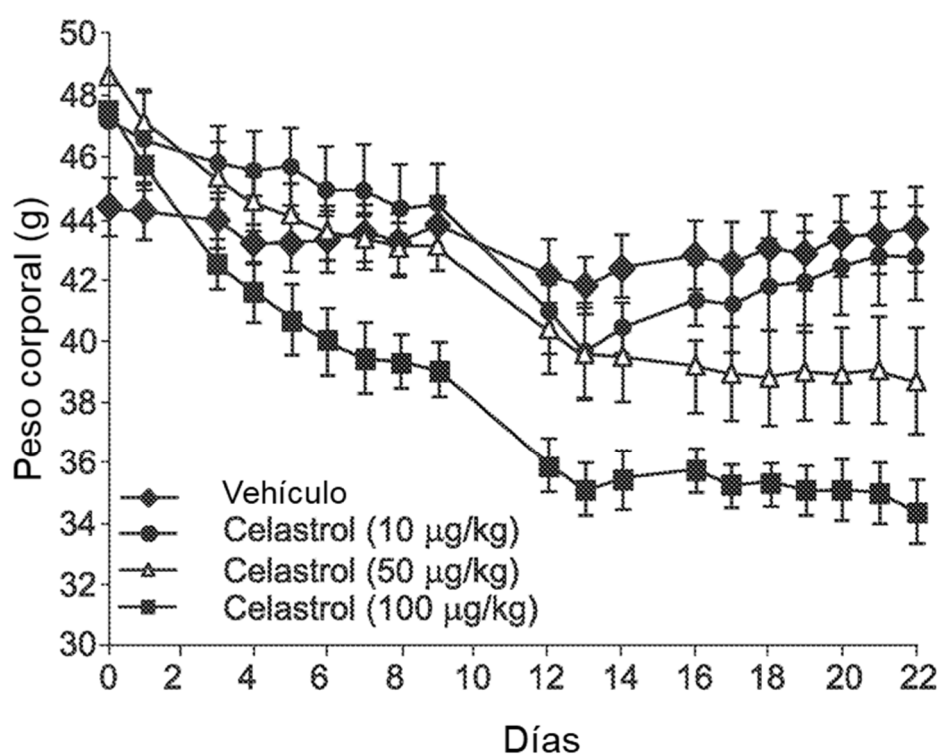


FIG. 1A

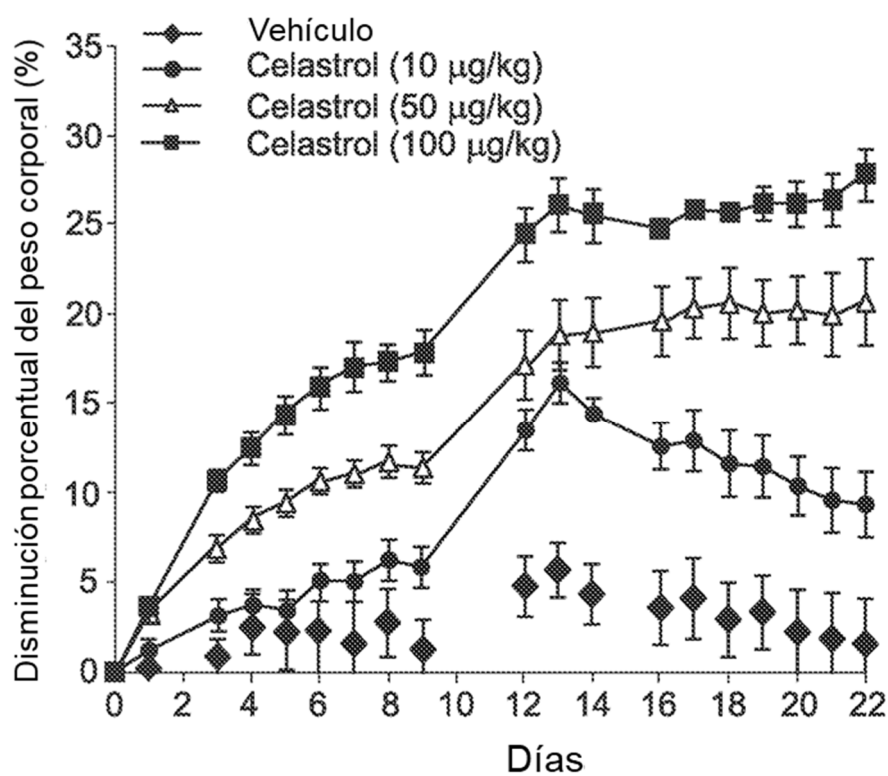


FIG. 1B

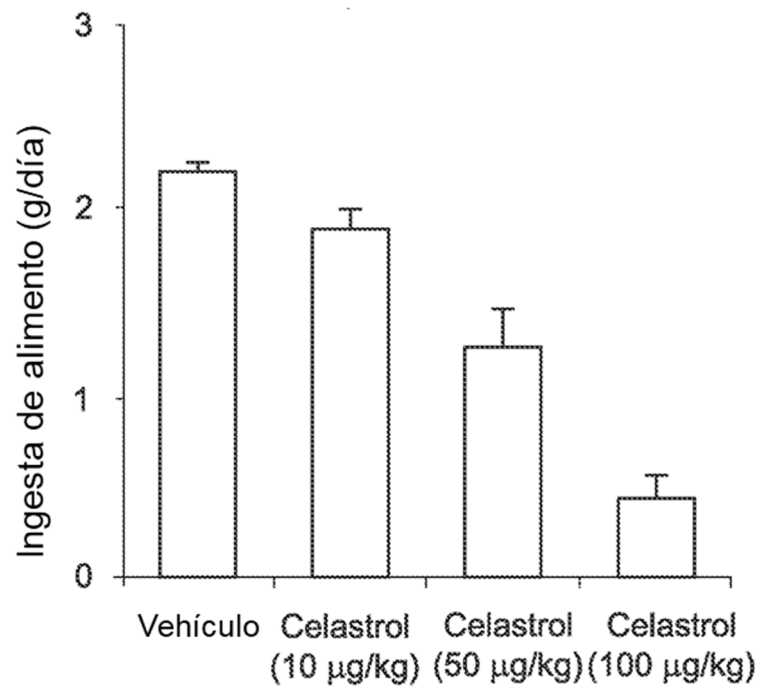


FIG. 1C

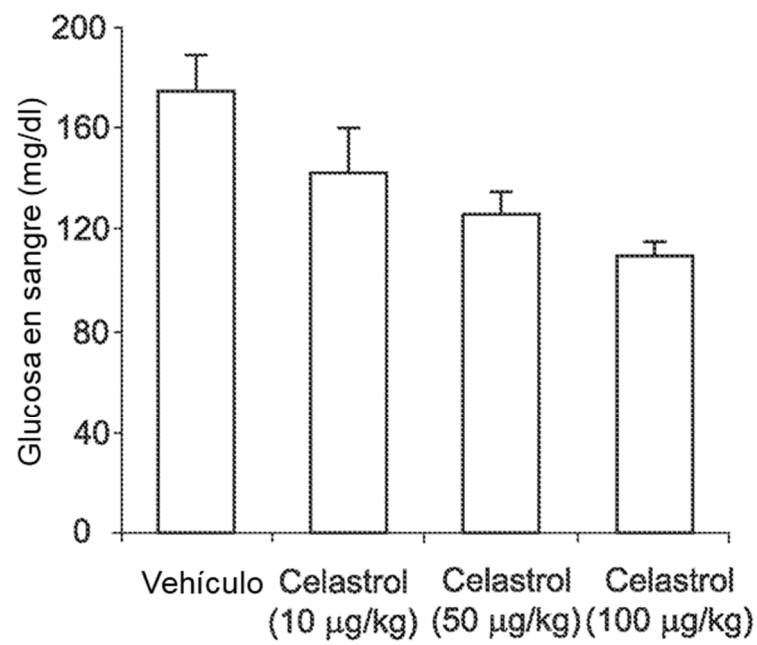


FIG. 1D

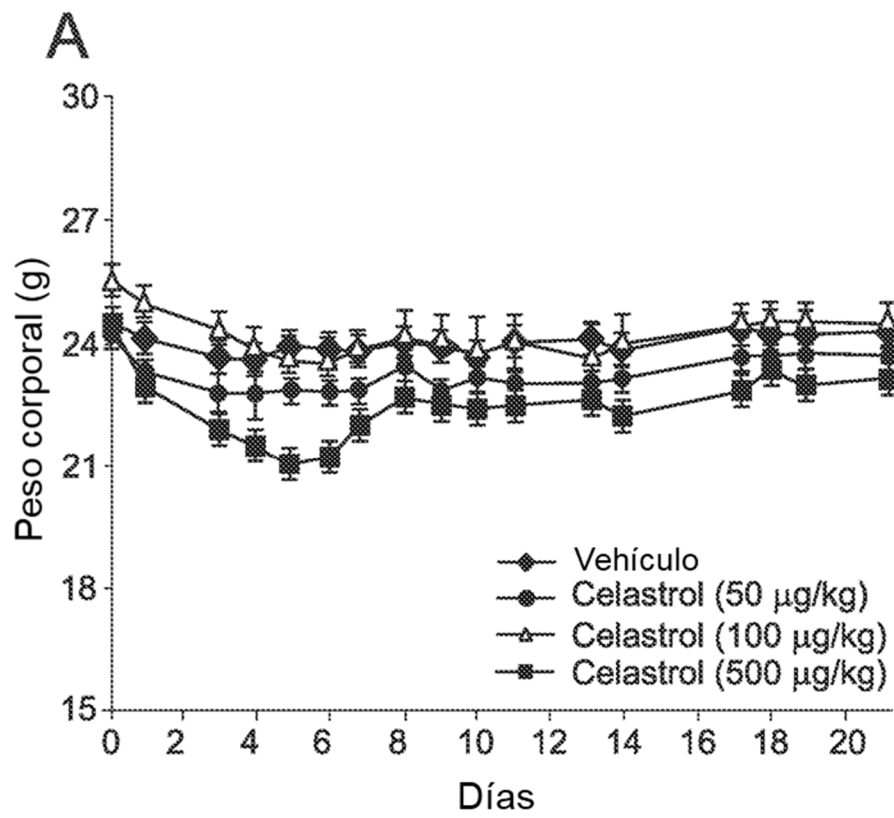


FIG. 2A

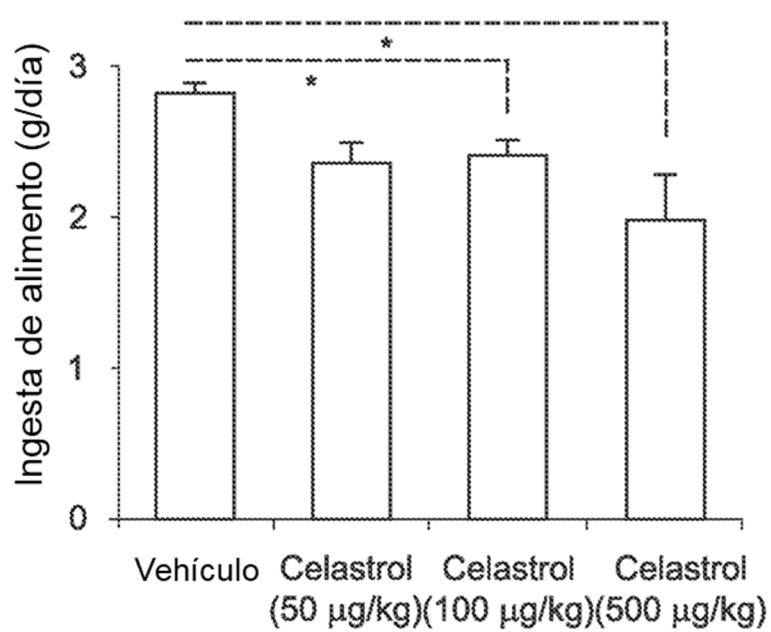


FIG. 2B

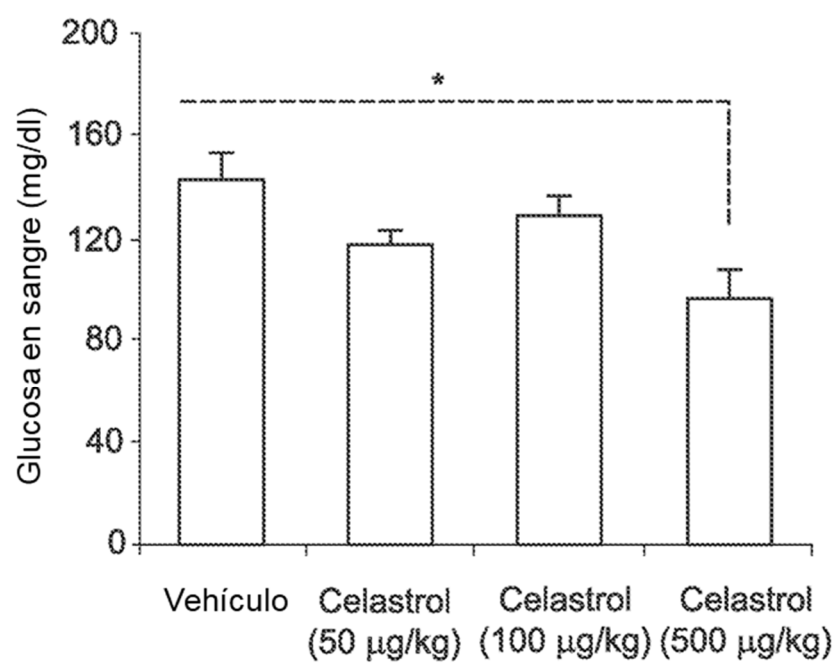


FIG. 2C

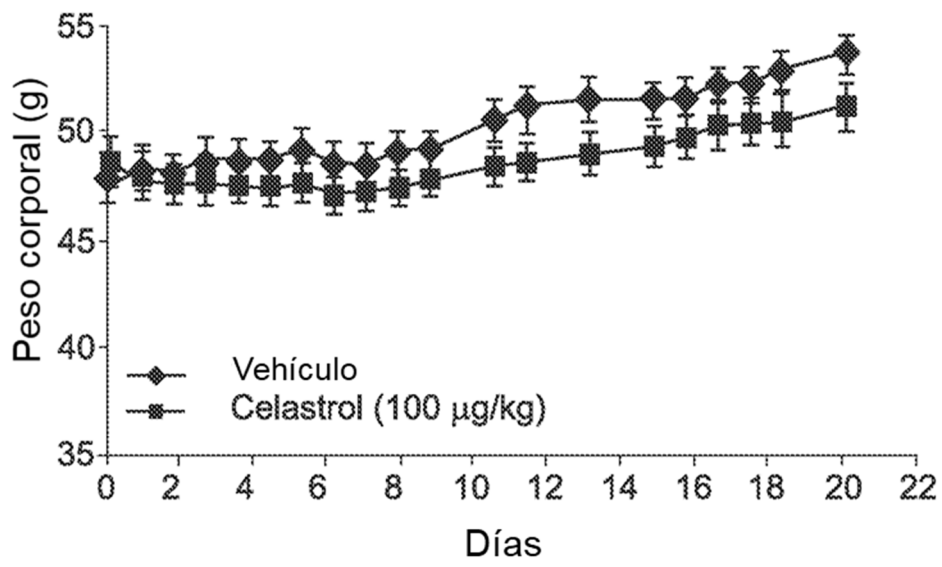


FIG. 3A

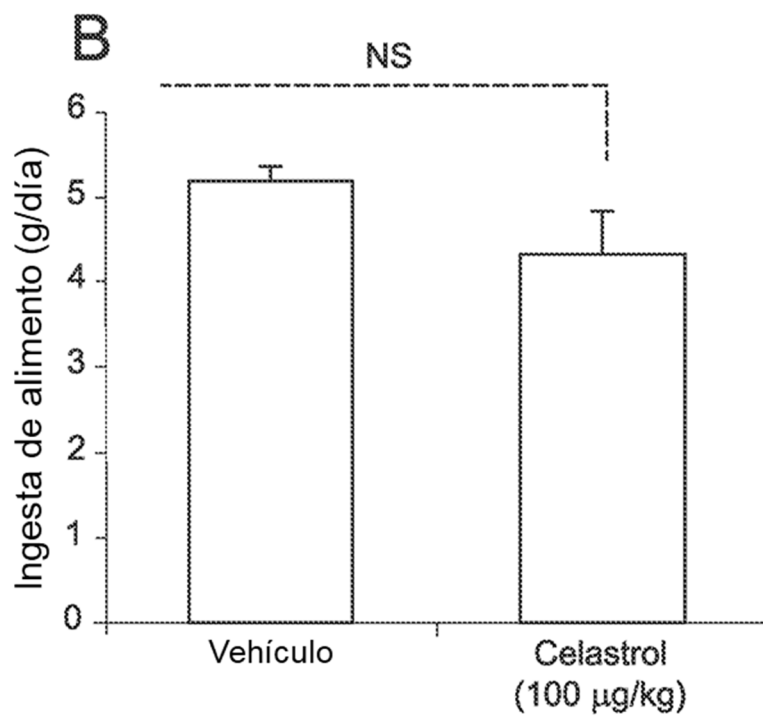


FIG. 3B

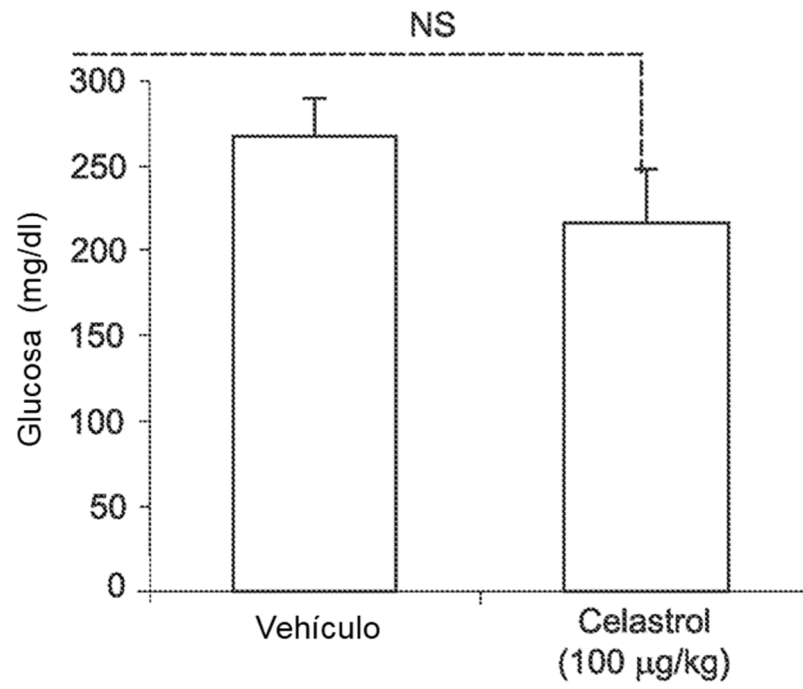


FIG. 3C

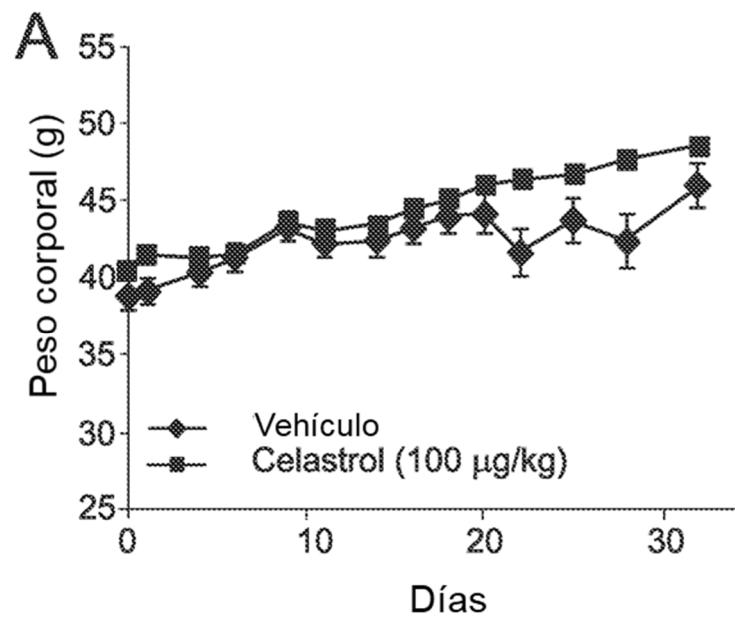


FIG. 4A

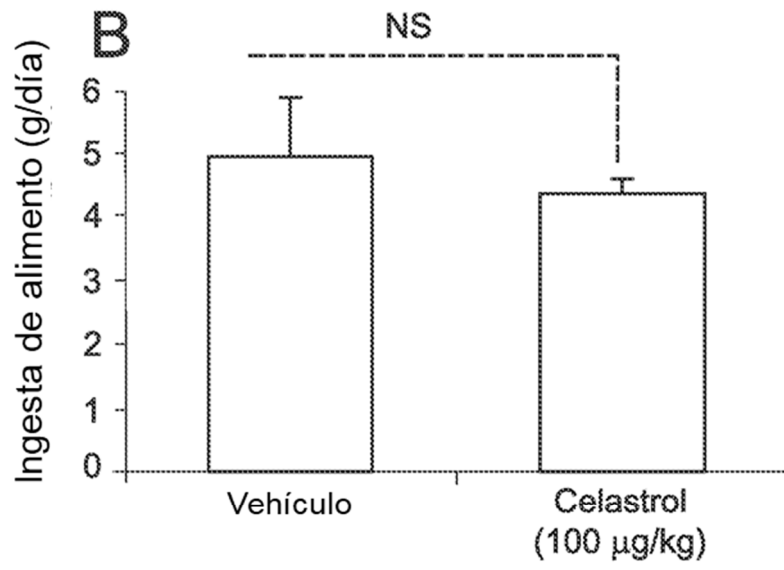


FIG. 4B

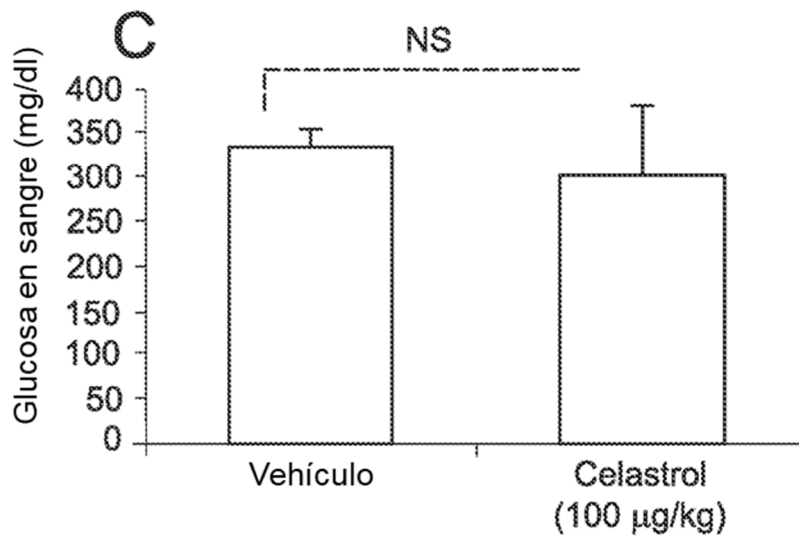


FIG. 4C

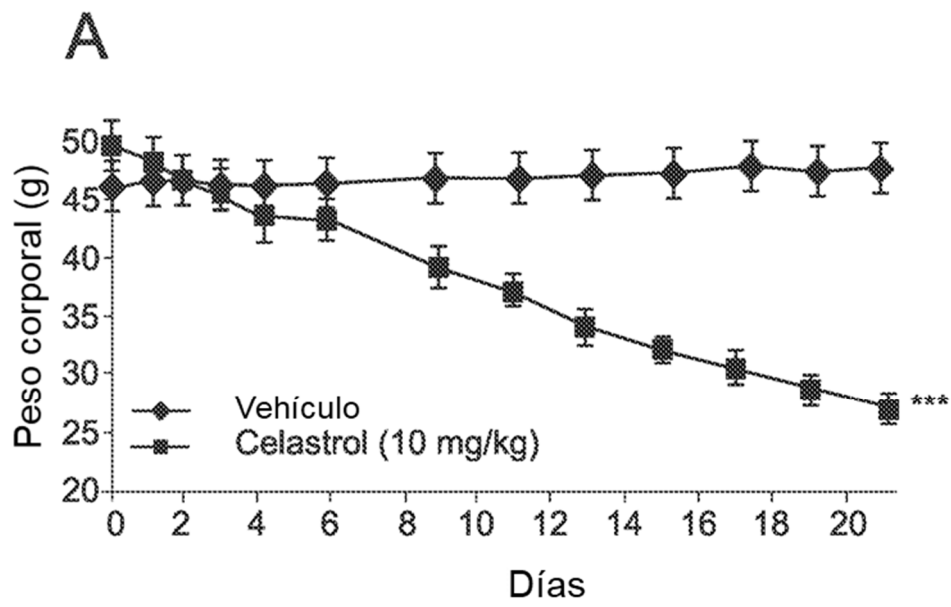


FIG. 5A

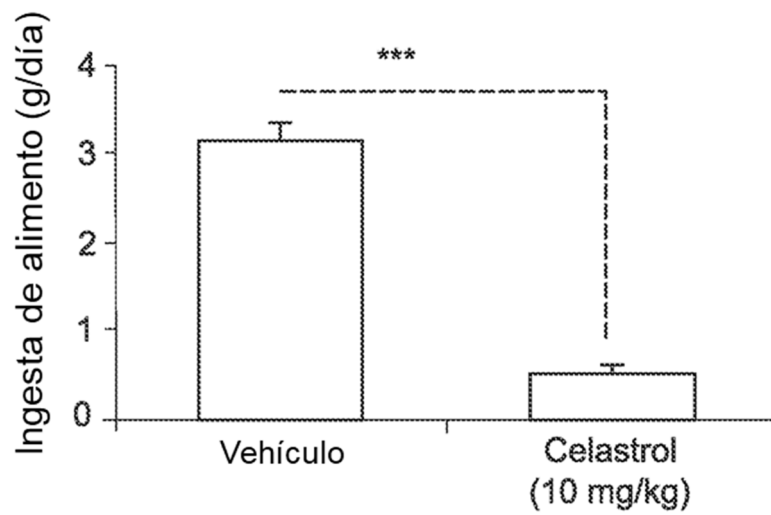


FIG. 5B

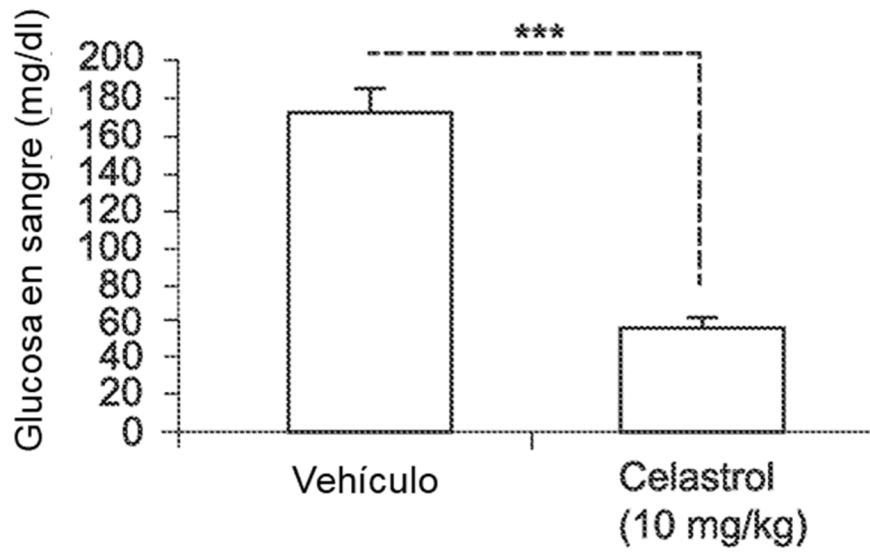


FIG. 5C

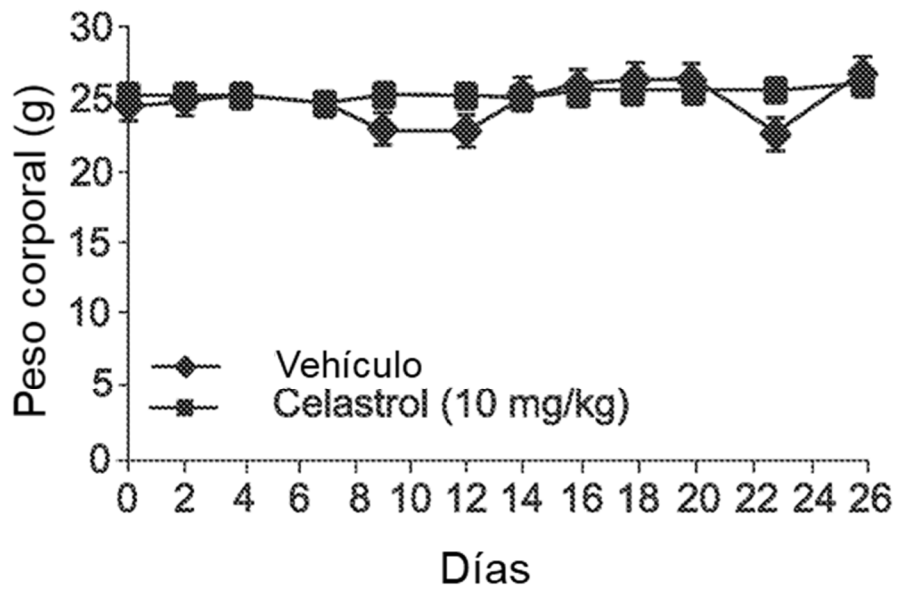


FIG. 5D

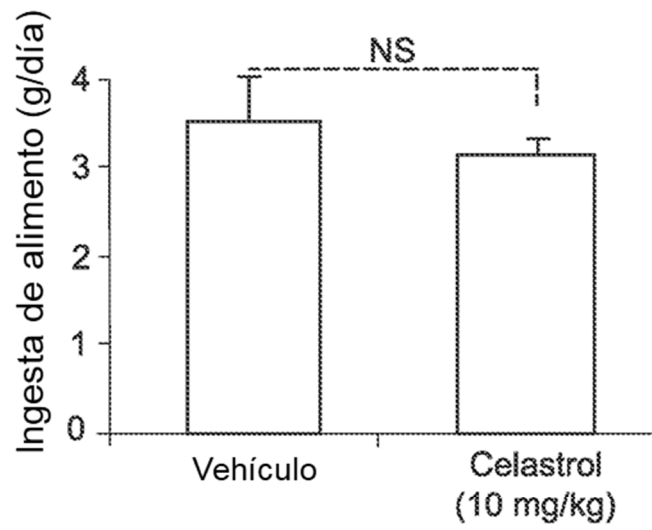


FIG. 5E

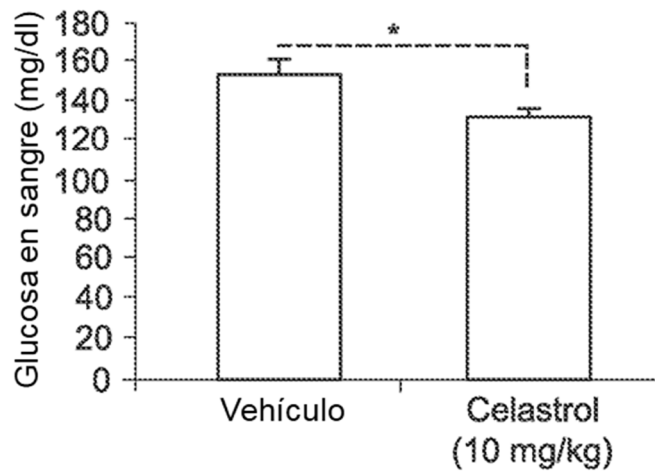


FIG. 5F

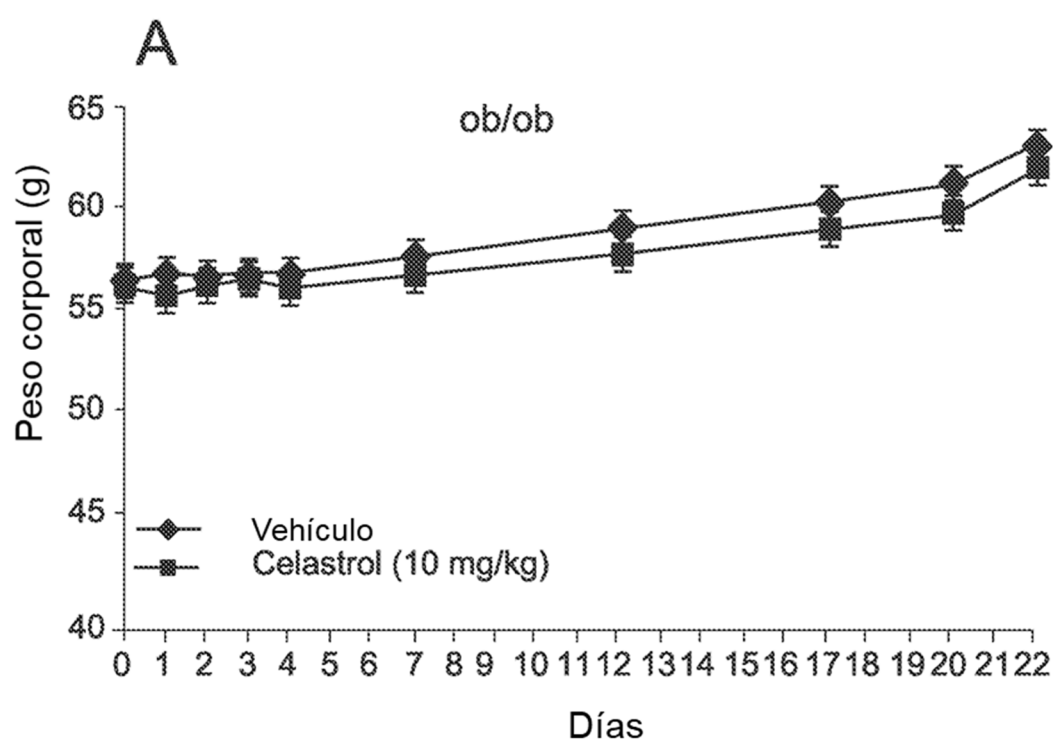


FIG. 6A

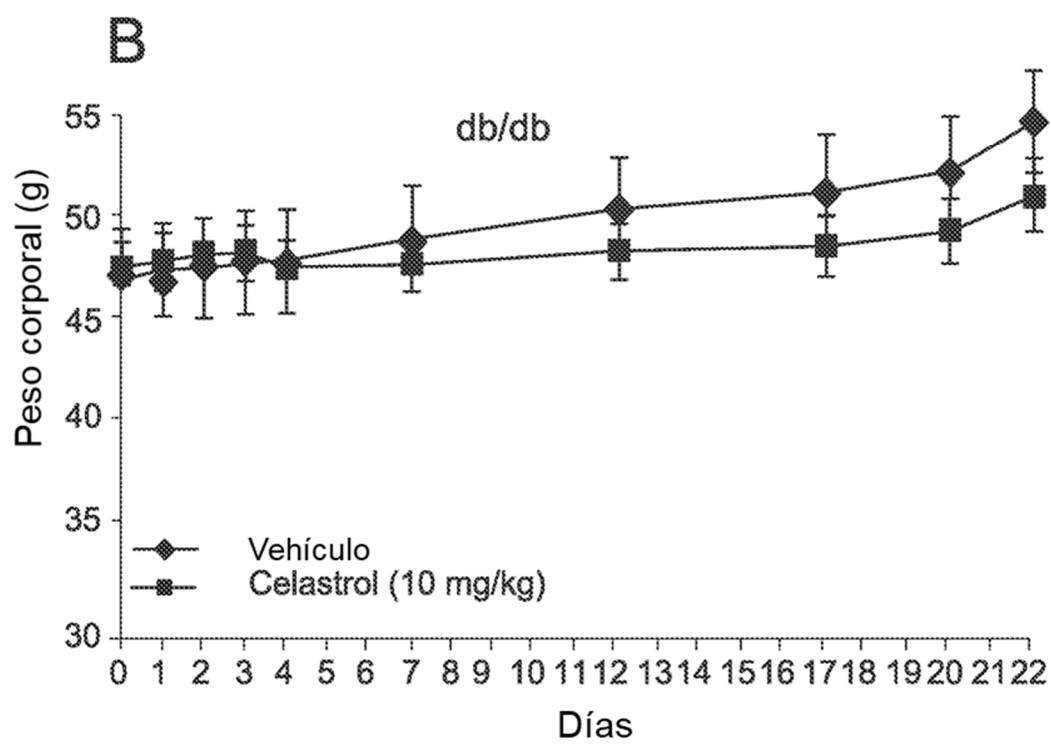


FIG. 6B

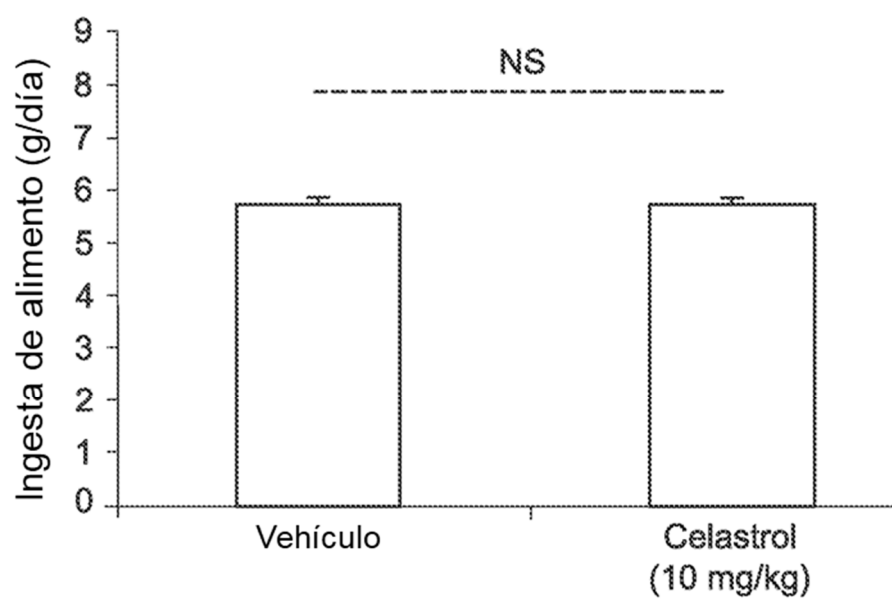


FIG. 6C

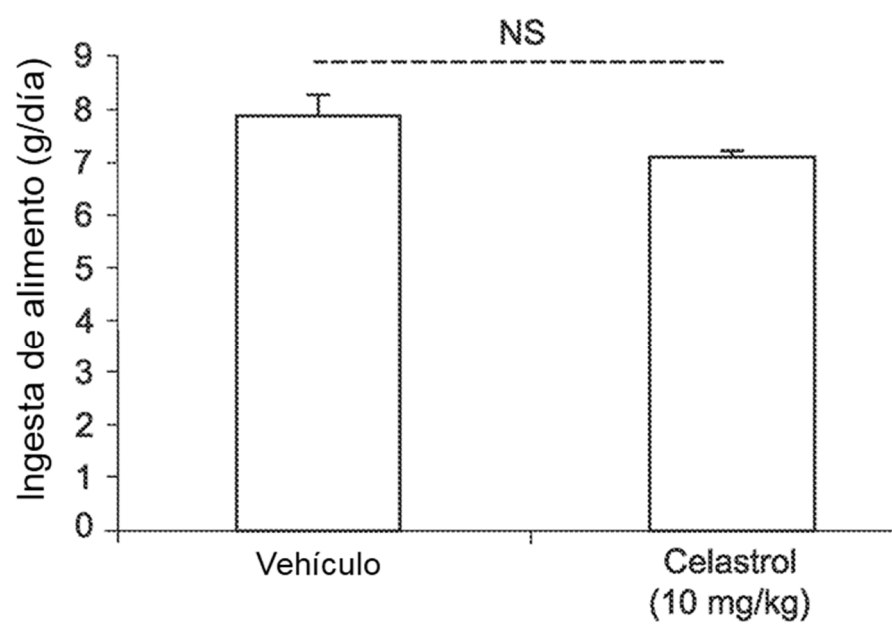


FIG. 6D

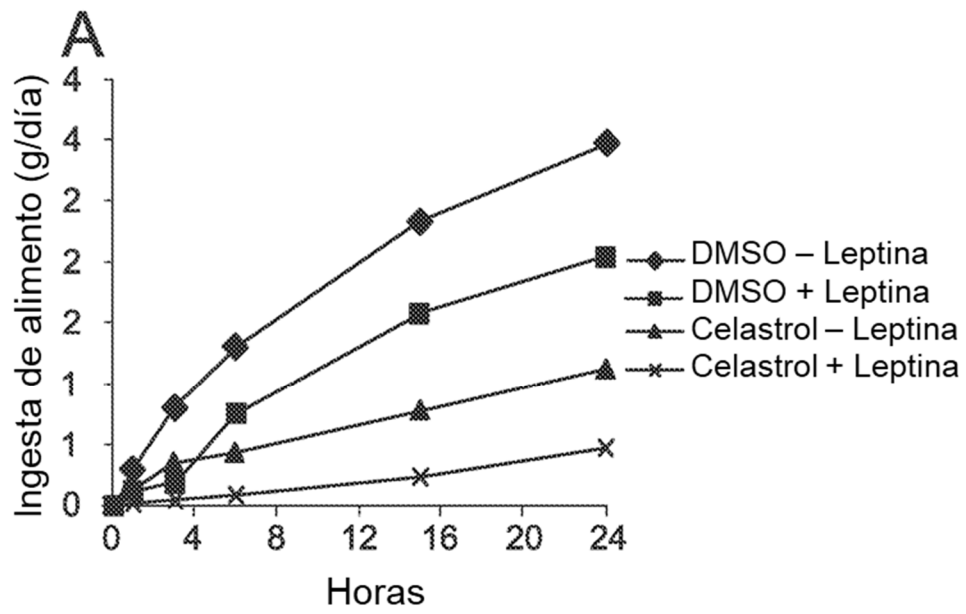


FIG. 7A

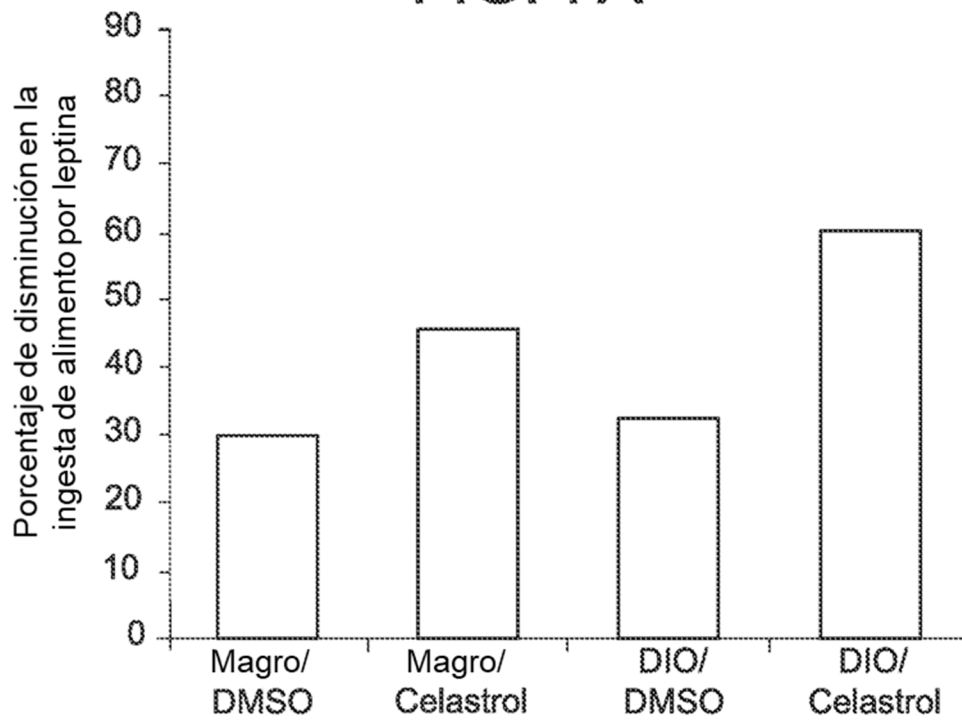


FIG. 7B

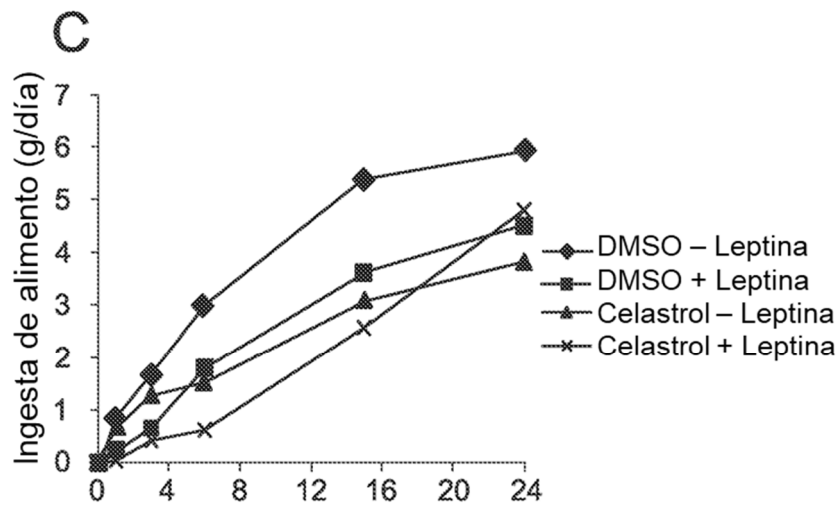


FIG. 7C

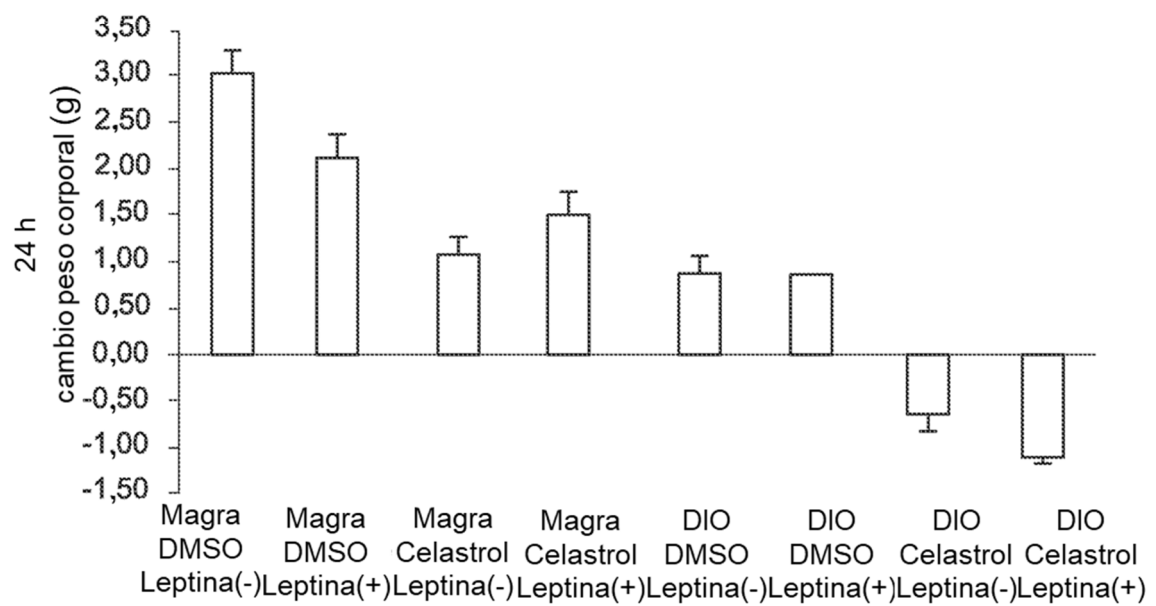


FIG. 7D

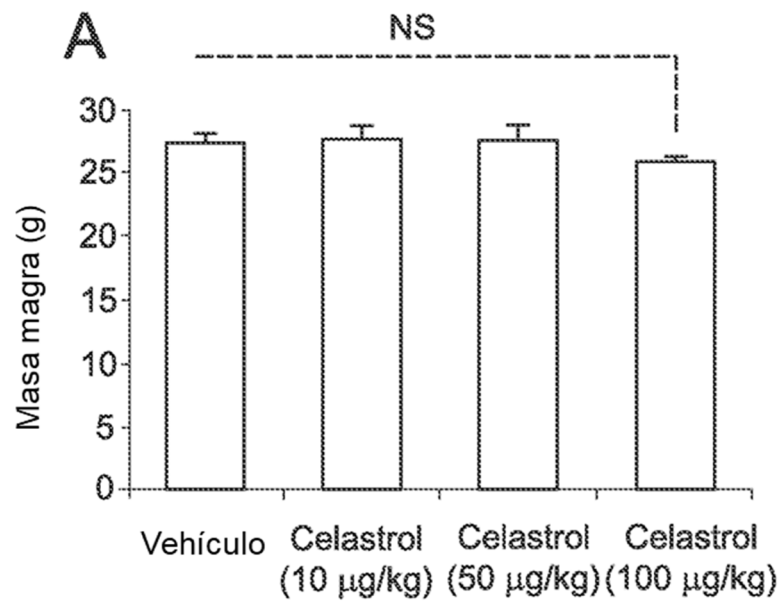


FIG. 8A

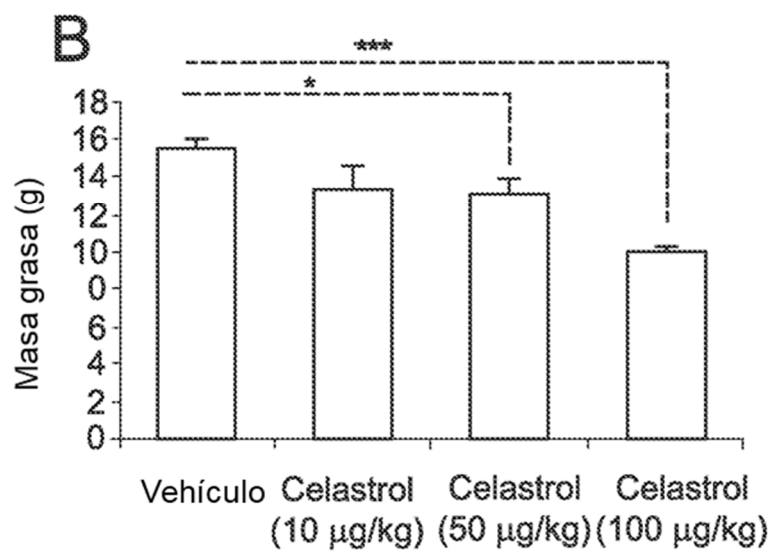


FIG. 8B

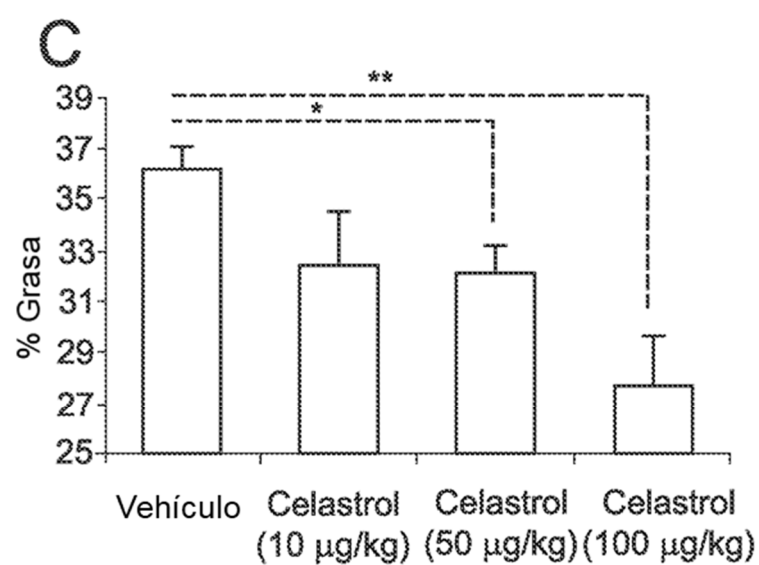


FIG. 8C

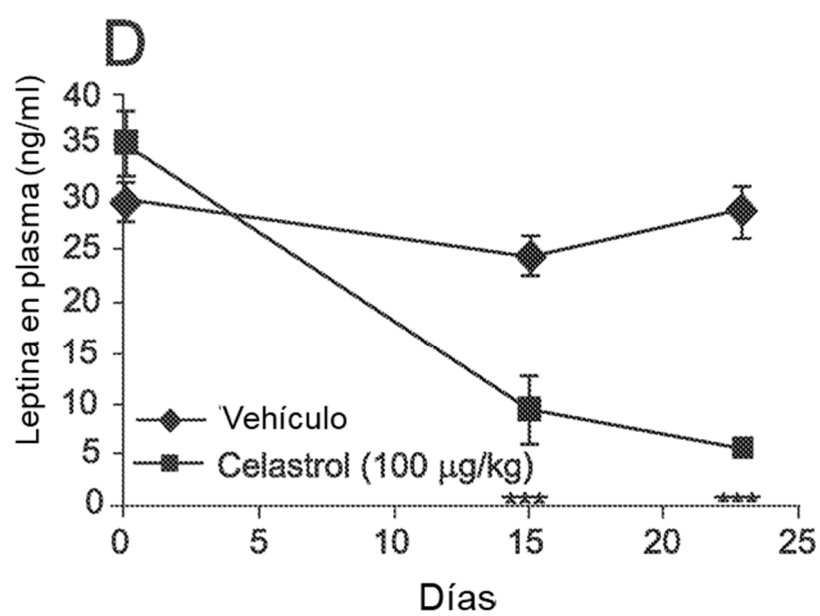


FIG. 8D

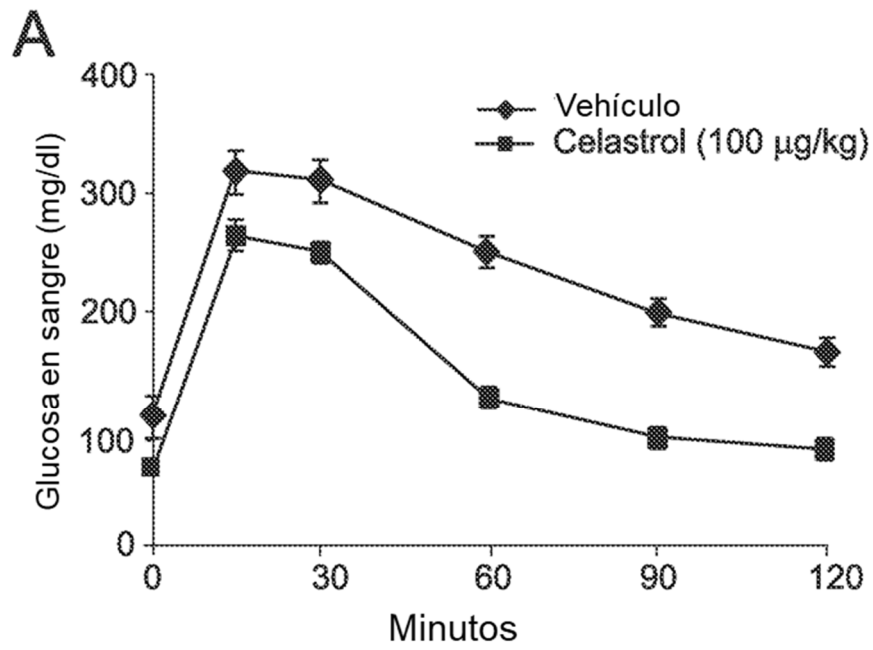


FIG. 9A

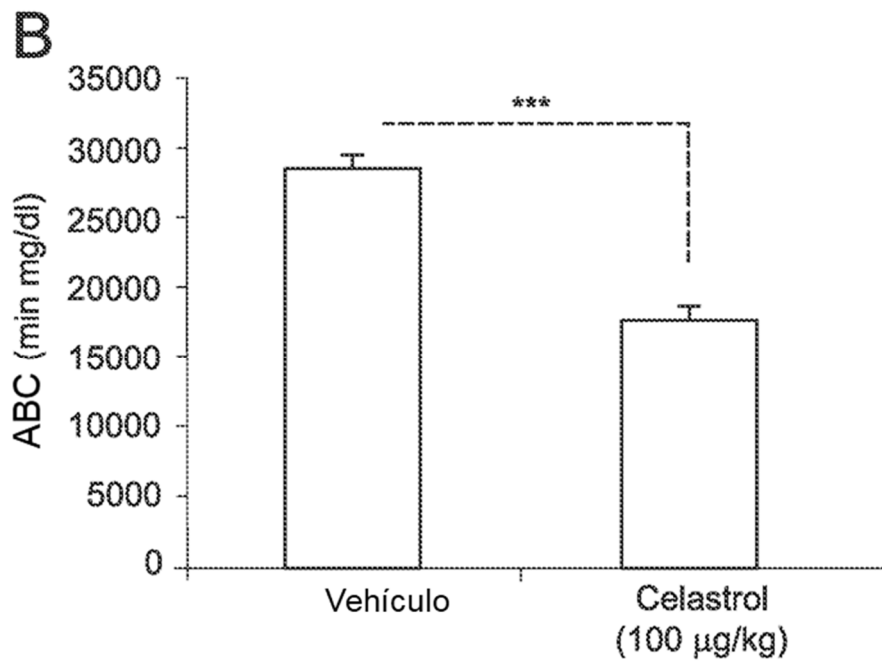


FIG. 9B

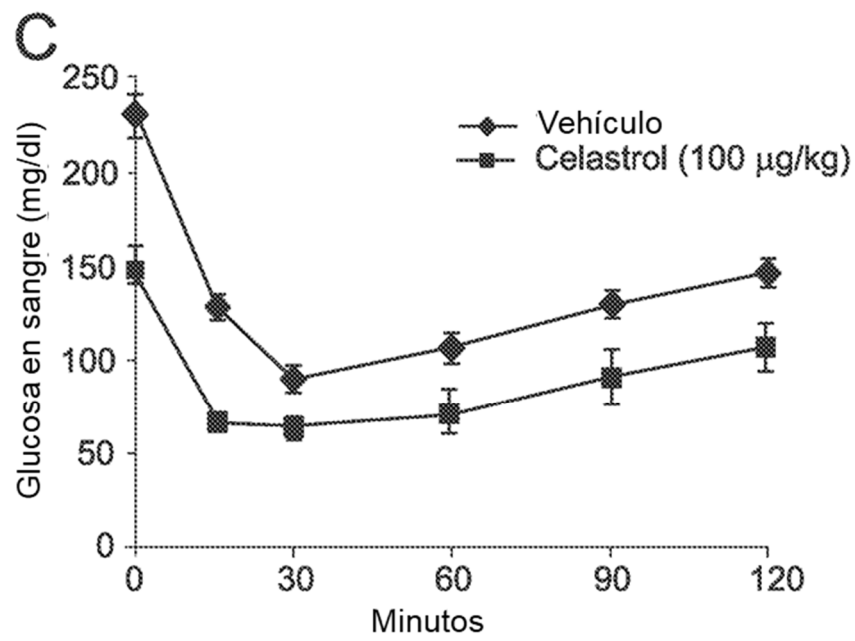


FIG. 9C

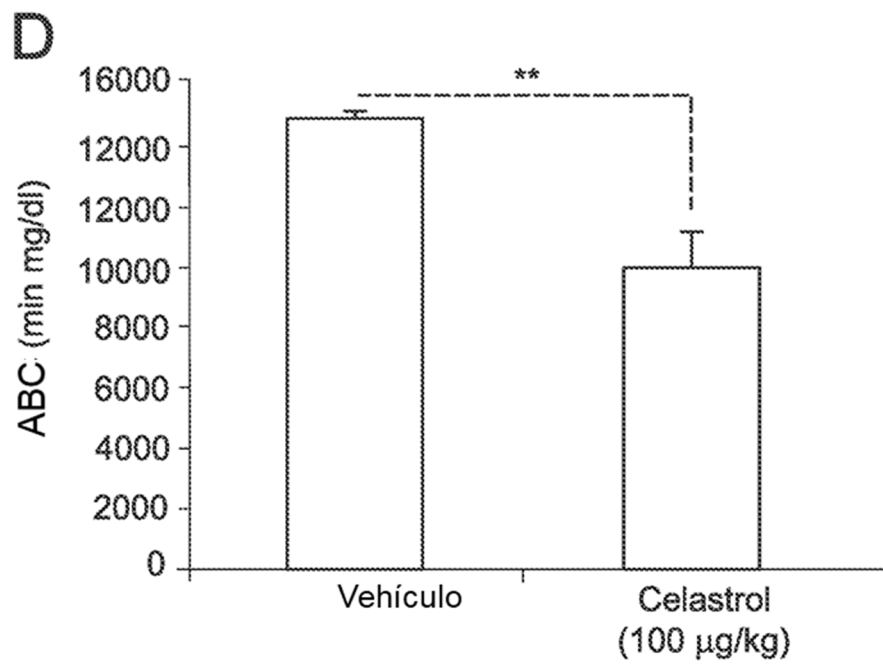


FIG. 9D

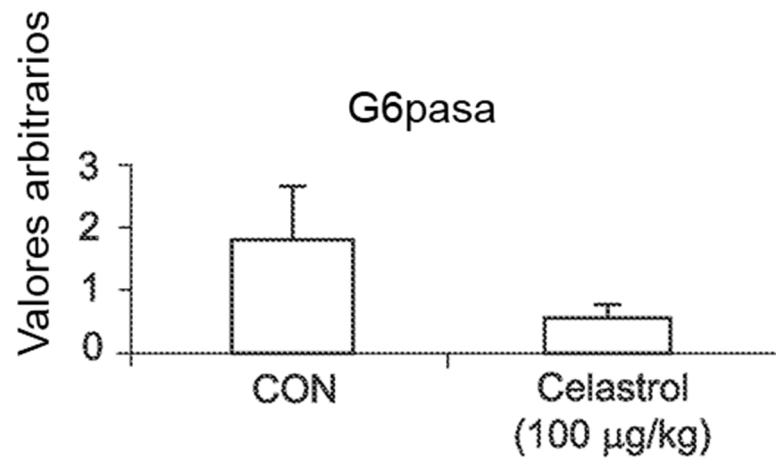


FIG. 10A

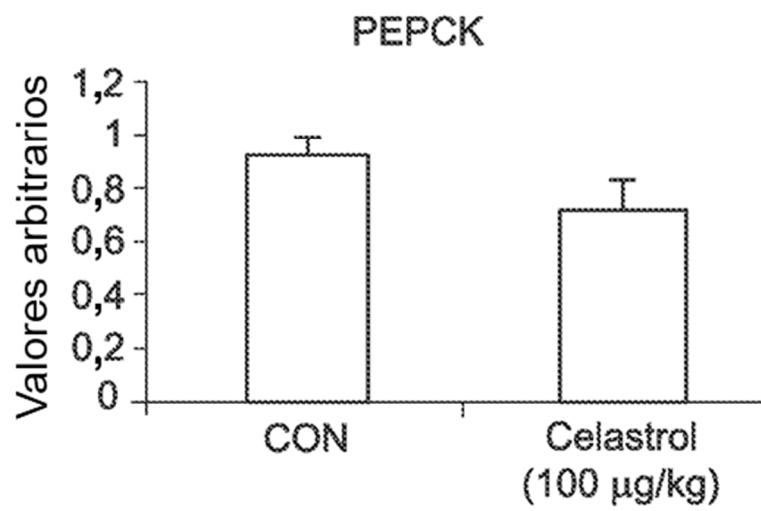


FIG. 10B

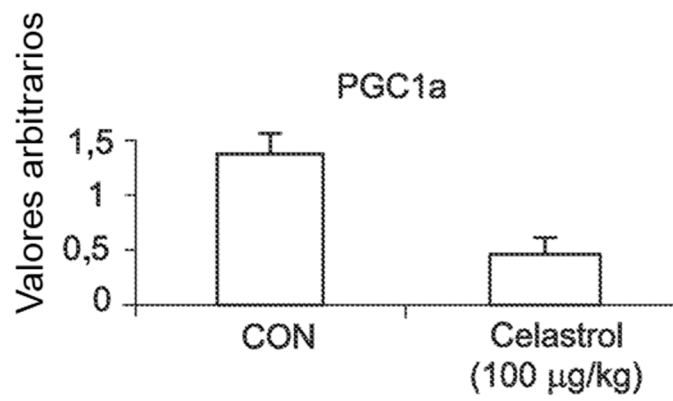


FIG. 10C

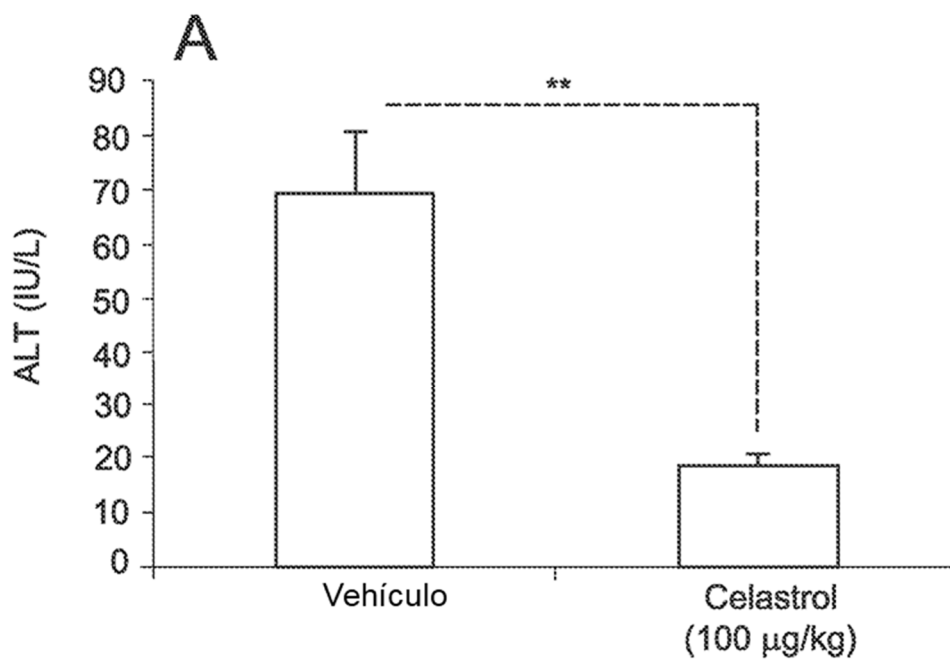


FIG. 11A

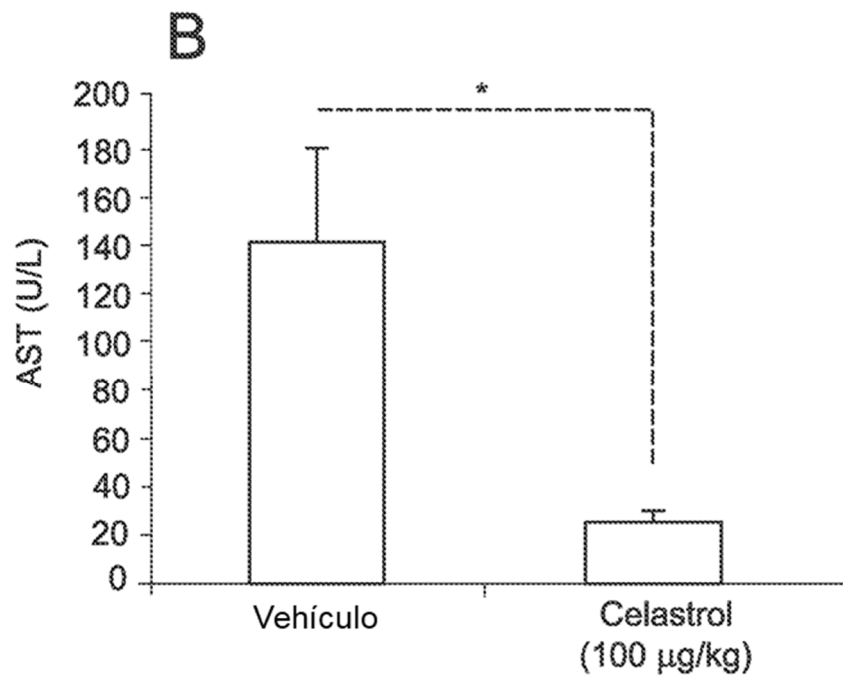


FIG. 11B

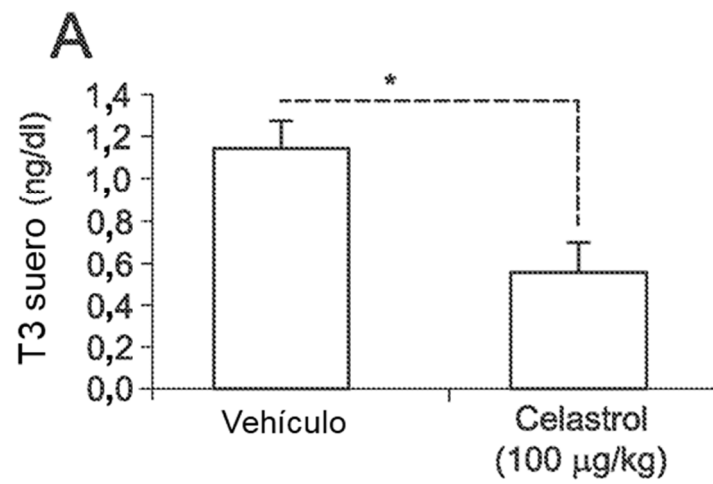


FIG. 12A

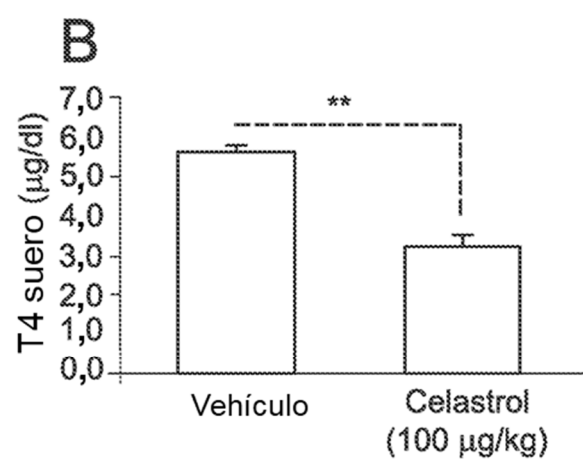


FIG. 12B

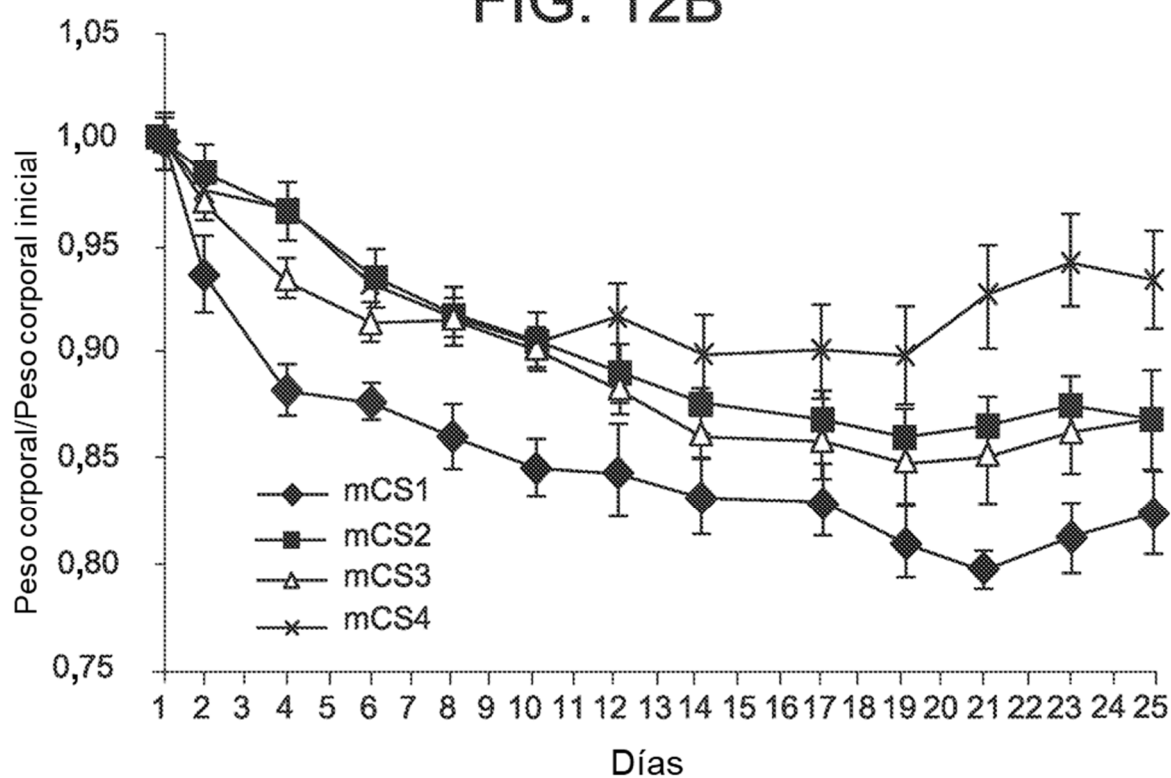


FIG. 13

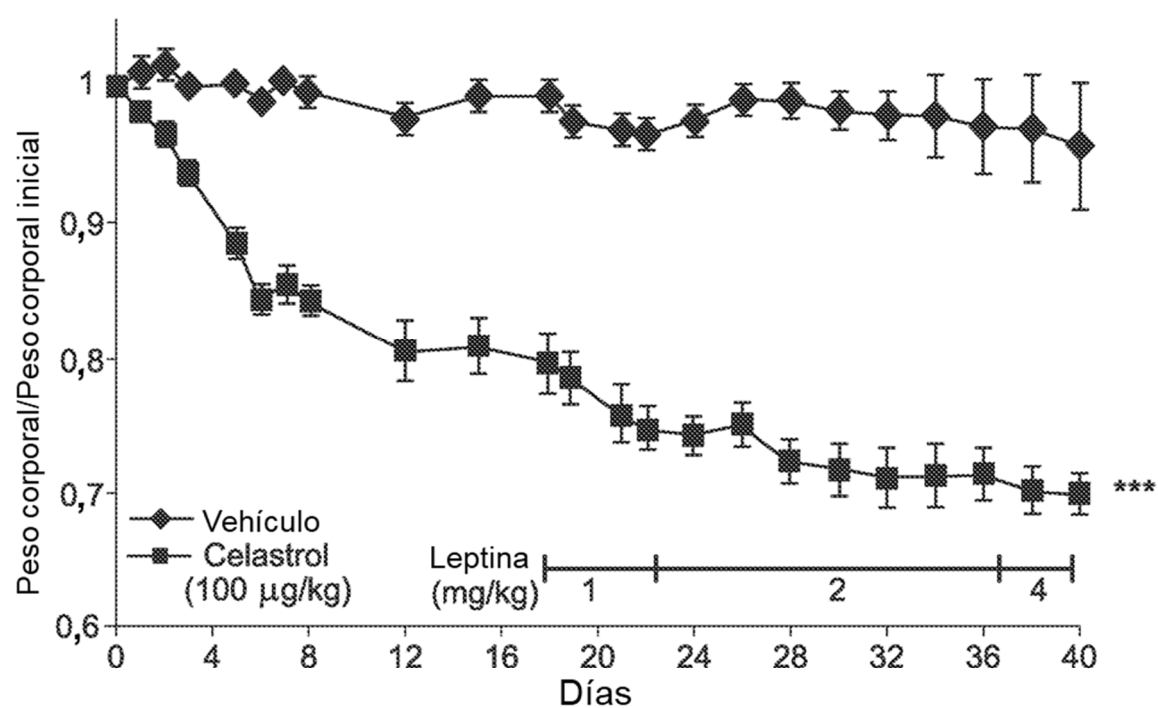


FIG. 14

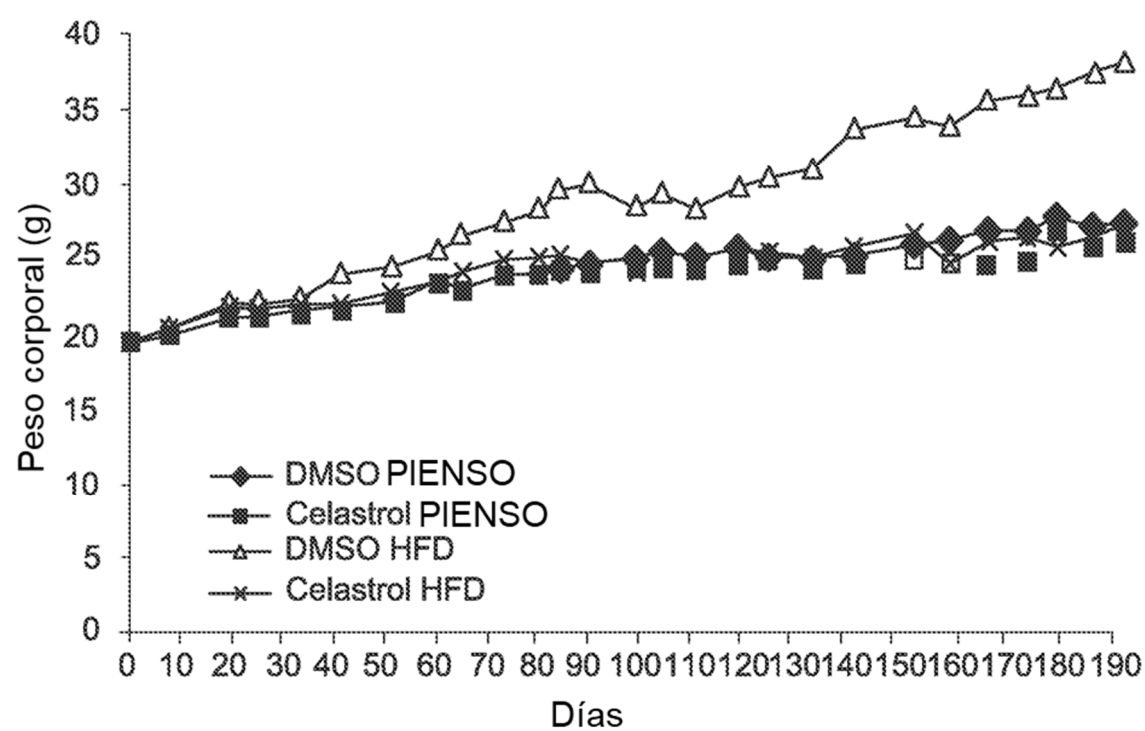


FIG. 15

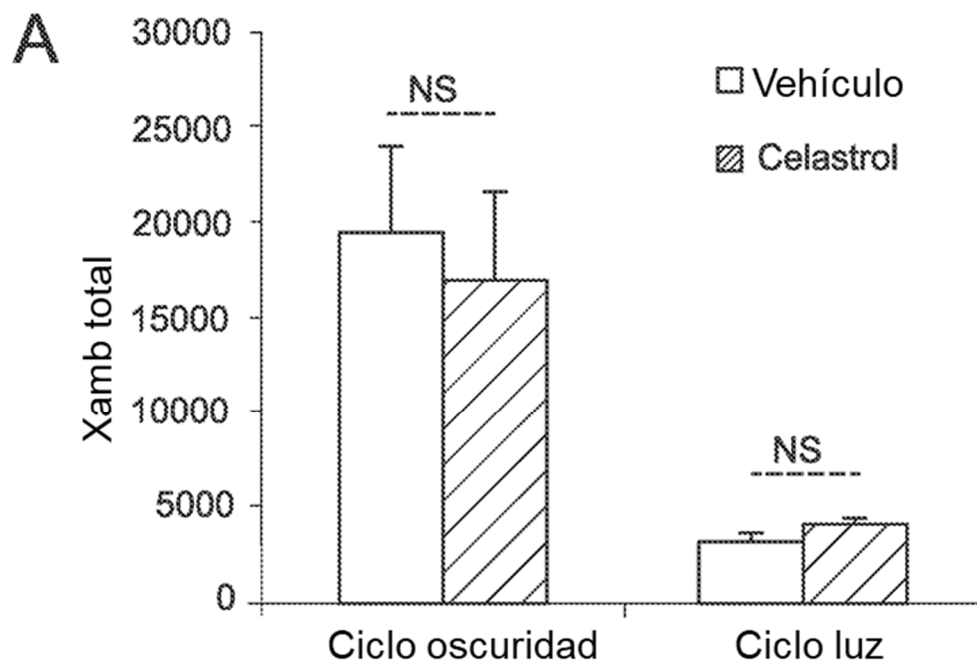


FIG. 16A

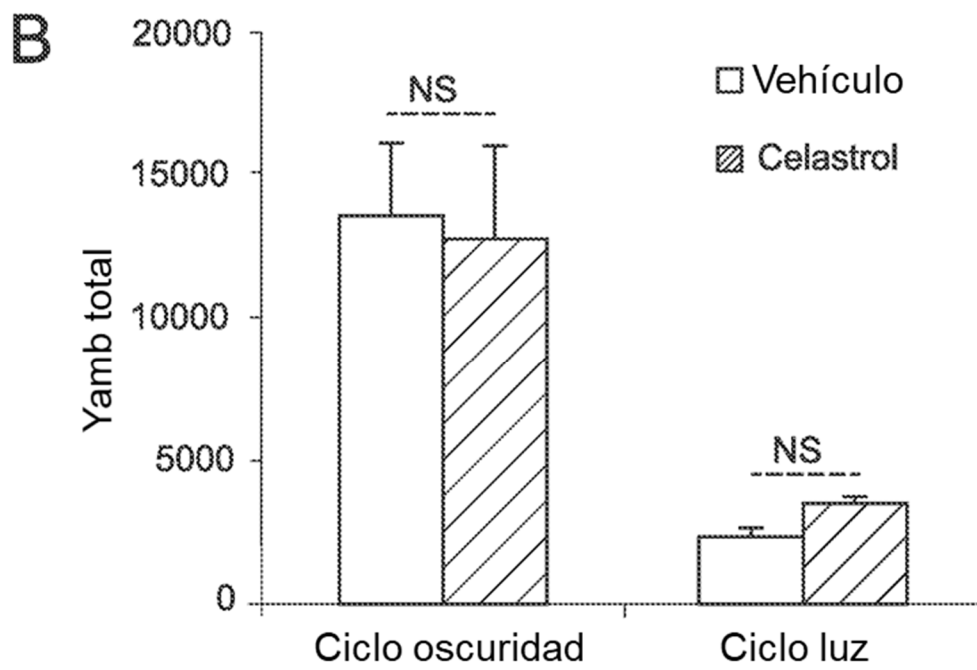


FIG. 16B