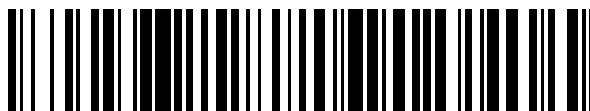


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 708 181**

51 Int. Cl.:

A61P 27/12 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)
G01N 21/64 (2006.01)
A61K 47/69 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2013** **PCT/US2013/050866**
87 Fecha y número de publicación internacional: **23.01.2014** **WO14015024**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2013** **E 13742133 (5)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2018** **EP 2874709**

54 Título: **Inhibidores de agregación de alfa-cristalina para el tratamiento de catarata**

30 Prioridad:

17.07.2012 US 201261672569 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.04.2019

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
MICHIGAN (100.0%)
1600 Huron Parkway 2nd Floor
Ann Arbor, Michigan 48109, US**

72 Inventor/es:

**GESTWICKI, JASON E.;
MAKLEY, LEAH;
MCMENIMEN, KATHRYN y
DEVREE, BRIAN**

74 Agente/Representante:

MILTENYI , Peter

ES 2 708 181 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

Inhibidores de agregación de alfa-cristalina para el tratamiento de catarata

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica la prioridad del documento de Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos n.º 61/672.569, presentado el 17 de julio de 2012.

Declaración de interés gubernamental

La presente invención se realizó con el apoyo gubernamental bajo RR024986 concedida por los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

Campo de la invención

- 10 La divulgación se refiere en términos generales a inhibidores de la agregación de α -cristalina, a los usos de los mismos, y a procedimientos de cribado para moduladores terapéuticamente eficaces de agregación de proteínas.

Antecedentes de la invención

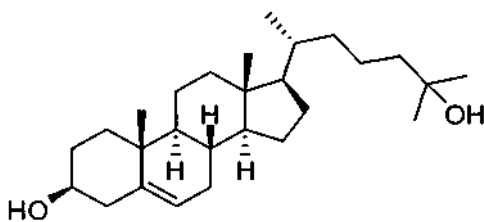
- La catarata, o una opacidad del cristalino, es una afección que afecta a más de la mitad de todos los adultos de más de 80 años, padeciendo aproximadamente 25 millones de pacientes la afección en los Estados Unidos de América. Además, se piensa que las cataratas son la causa principal de ceguera a nivel mundial. La α A-cristalina (cryAA) y la α B-cristalina (cryAB) comprenden el treinta por ciento del contenido de proteína del cristalino, donde son responsables del mantenimiento de la transparencia del cristalino (Haslbeck y col., *Nat Struct Mol Biol* 12, 842 (2005). cryAA y cryAB pertenecen a una familia de proteínas de choque térmico pequeñas (sHSP) que contienen un dominio de cristalina conservado (Bloemendal y col., *Prog Biophys Mol Biol* 86, 407 (2004); Haslbeck, citado anteriormente). Una vez sintetizadas, estas sHSP del cristalino nunca se degradan, de modo que cualquier daño se acumula a través de la vida y finalmente conduce a catarata asociada al envejecimiento (Haslbeck, citado anteriormente; Perng y col., *J Biol Chem* 274, 33235 (1999); Meehan y col., *J Biol Chem* 279, 3413 (2004); Meehan y col., *J Mol Biol* 372, 470 (2007)). De forma similar, las mutaciones desestabilizantes en cryAB, tales como R120G, dan como resultado formas hereditarias de catarata de inicio temprano (Vicart y col., *Nat Genet* 20, 92 (1998)). En la catarata hereditaria, cryAB es propensa a la agregación y forma fibrillas de tipo amiloide *in vitro* (Andley y col., *PLoS One* 6, e17671 (2011)). El documento US 2004/019027 desvela compuestos adecuados para la prevención o el tratamiento de trastornos asociados a la degradación del colesterol, entre otros ácido litocólico para el tratamiento de cataratas.

- En la actualidad, el tratamiento para las cataratas incluye cirugía para extirpar el cristalino opaco e insertar un reemplazo artificial. La cirugía puede ser costosa y no es apropiada para todos los pacientes. Las terapias que se tienen como objetivo el mecanismo subyacente de la agregación de proteínas podrían beneficiar a estos pacientes. De ese modo, sigue existiendo la necesidad en la técnica de compuestos terapéuticos y procedimientos de cribado para compuestos terapéuticos que bloqueen las proteínas propensas a la agregación, tales como cryAB, de la formación de agregados patológicos (por ejemplo, agregados asociados a cataratas).

Sumario de la invención

La invención proporciona las siguientes realizaciones que se definen en los apartados 1-13:

1. Una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto representado por la fórmula:



- 40 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de catarata en un individuo con necesidad del mismo.

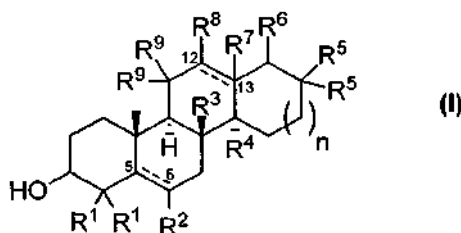
2. La composición para su uso de acuerdo con el apartado 1, en el que la composición se formula para su uso por vía tópica, subconjuntiva, retrobulbar, periocular, subretiniana, supracoroidal, o intraocular.

3. La composición para su uso de acuerdo con el apartado 1 o 2, en el que la catarata es una catarata relacionada

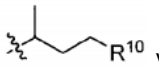
con la edad, una catarata diabética, una forma hereditaria de catarata de inicio temprano, una catarata asociada a cirugía, una catarata que resulta de exposición a radiación, una catarata que resulta de una enfermedad genética, una catarata que resulta de una infección, o una catarata que resulta de medicación.

4. La composición para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los apartados 1-3, en el que la catarata es una catarata relacionada con la edad, una catarata diabética o una forma hereditaria de catarata de inicio temprano.
5. La composición para su uso de acuerdo con los apartados 3 o 4, en el que el individuo tiene una forma hereditaria de catarata de inicio temprano y tiene una mutación R120G o una mutación D109H en cryAB.
6. La composición para el uso de uno cualquiera de los apartados 1 a 5, en el que la composición comprende un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable.
10. 7. La composición para el uso del apartado 6, en el que el vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable es una ciclodextrina.
8. La composición para el uso del apartado 7, en el que la ciclodextrina es (2-hidroxipropil)- β -ciclodextrina.
9. La composición para el uso de uno cualquiera de los apartados 1-8, en el que la composición inhibe la agregación de α -cristalina.
15. 10. La composición para el uso de uno cualquiera de los apartados 1 a 8, en el que la composición reduce la agregación de proteína α -cristalina en al menos un 5 % en un ojo del individuo.
11. La composición para el uso del apartado 1, en el que la catarata a tratar se detecta mediante ensayo de agudeza visual.
12. La composición para el uso del apartado 1, en el que se mejora la transparencia del cristalino.
20. 13. La composición para el uso del apartado 1, en el que la catarata se detecta mediante ensayo de contraste.

En el presente documento se desvela una composición que comprende un compuesto de fórmula I:

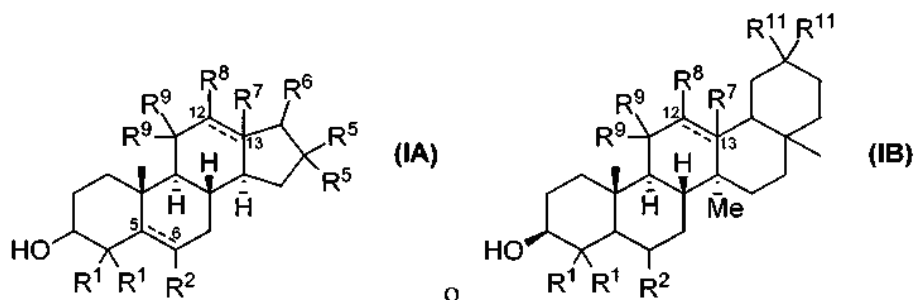


en la que:

- ambos R^1 son H o ambos R^1 son Me;
25. R^2 es H u OH;
- la línea punteada entre los carbonos 5 y 6 indica un doble enlace opcional;
- R^3 es H o Me;
- R^4 es H o Me;
- n es 0 o 1;
30. (a) R^6 es  y cada R^5 es independientemente H o Me o (b) R^6 y un R^5 tomados conjuntamente forman un anillo de 6 miembros opcionalmente sustituido y el otro R^5 es Me;
- la línea punteada entre los carbonos 12 y 13 es un doble enlace opcional, con la condición de que R^7 no esté presente cuando está presente el doble enlace entre los carbonos 12 y 13, y R^7 sea H o Me cuando no está presente el doble enlace entre los carbonos 12 y 13;
35. R^8 es H u OH;
- ambos R^9 forman conjuntamente un oxo ($=O$) o ambos R^9 son hidrógeno; y
- R^{10} es CO_2H o alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado;
- o un profármaco o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o la prevención de catarata.
40. Además se desvela una composición farmacéutica oftálmica que comprende un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula I.

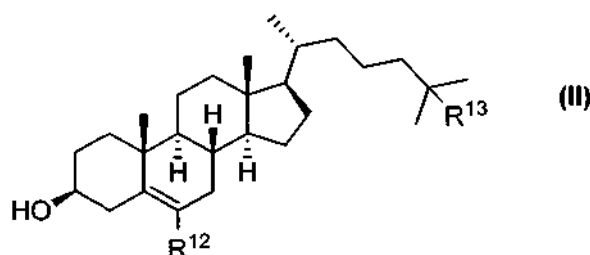
En diversos aspectos del procedimiento y/o la composición que se desvelan en el presente documento, el

compuesto de fórmula I tiene una estructura de fórmula IA o fórmula IB:



en las que cada R^{11} es independientemente alquilo, CO_2H , o CO_2 alquilo.

- En un aspecto más específico del procedimiento y/o la composición que se desvelan en el presente documento, el compuesto tiene una estructura de fórmula II:



en la que R^{12} es H u OH y R^{13} es H o OH. En un aspecto del procedimiento y/o la composición que se desvelan en el presente documento, el compuesto es 5-colesten-3b,25-diol.

- En diversos aspectos del procedimiento que se desvela en el presente documento, la composición se administra por vía tópica, subconjuntiva, retrobulbar, periocular, subretiniana, supracoroidal, o intraocular. En diversos aspectos del procedimiento que se desvela en el presente documento, la catarata es una catarata relacionada con la edad o una catarata diabética. En algunos aspectos del procedimiento que se desvela en el presente documento, el individuo tiene una forma hereditaria de catarata de inicio temprano. En aspectos más específicos del procedimiento que se desvela en el presente documento, el individuo tiene una mutación R120G y/o una mutación D109H en cryAB.
- En algunos aspectos de la composición, el vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable es una ciclodextrina. En un aspecto específico, la ciclodextrina es (2-hidroxipropil)- β -ciclodextrina.

- Además, en el presente documento se desvela un procedimiento de alto rendimiento de cribado de compuestos para modulación de estabilidad térmica de proteínas, comprendiendo el procedimiento: (a) poner en contacto una proteína con cada uno de una pluralidad de compuestos de ensayo; y (b) medir la transición de fusión (T_f) de la proteína en presencia de cada uno de la pluralidad de compuestos de ensayo, en el que el compuesto que disminuye o aumenta la T_f aparente en al menos 2 desviaciones típicas es una proteína chaperona farmacológica.

- En diversos aspectos del procedimiento que se desvela en el presente documento, la proteína es una proteína formadora de amiloide o una proteína subyacente a una enfermedad de pérdida de función. En algunos aspectos, la proteína formadora de amiloide se selecciona entre el grupo que consiste en Hsp27, αA -cristalina, αB -cristalina, $\beta B2$ -cristalina, $\beta B1$ -cristalina, γD -cristalina, Hsp22, Hsp20, tau, Alfa-sinucleína, IAPP, β -amiloide, PrP, Huntingtina, Calcitonina, factor natriurético auricular, apolipoproteína A1, amiloide A sérico, Medina, Prolactina, Transtiretina, Lisozima, Beta 2 microglobulina, Gelsolina, Queratoepitelina, Cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, y S-IBM. En otros aspectos, la proteína subyacente a una enfermedad de pérdida de función se selecciona entre el grupo que consiste en β -glucosidasa mutante, receptor de membrana de fibrosis quística, hexosaminidasa A, hexosaminidasa B, β -galactosidasa, y alfa-glucosidasa.

En algunos aspectos del procedimiento que se desvela en el presente documento, la T_f se determina usando un dispositivo de fluorimetría de barrido diferencial de alto rendimiento.

- En un aspecto del procedimiento que se desvela en el presente documento, la etapa de medición comprende: (b1) calentar la proteína en presencia de cada uno de una pluralidad de compuestos de ensayo de 50 °C a 80 °C, (b2) enfriar la proteína a 25 °C, (b3) mantener la proteína a 25 °C durante 10 segundos, y (b4) medir la fluorescencia de la proteína.

En diversos aspectos, el procedimiento que se desvela en el presente documento comprende además repetir las etapas (b1)-(b4) entre 2 y 30 veces, en el que cada repetición de la etapa (b1) se realiza con una temperatura gradualmente mayor. En aspectos específicos, la proteína formadora de amiloide se calienta de 65 °C a 80 °C en incrementos de 1 °C. En otros aspectos, (b1) comprende además, después de calentamiento, equilibrar la proteína formadora de amiloide y el compuesto de ensayo entre 60 y 180 segundos. En diversos aspectos del procedimiento, la etapa de equilibrado es de 130 segundos.

Además, en el presente documento se desvela un sistema de cribado de alto rendimiento, que comprende: (a) una proteína formadora de amiloide; (b) un dispositivo capaz de medir la transición de fusión (T_f) de la proteína formadora de amiloide; y (c) una pluralidad de compuestos de ensayo.

- 10 En diversos aspectos del sistema de cribado, la proteína se selecciona entre el grupo que consiste en Hsp27, α A-cristalina, α B-cristalina, β B2-cristalina, β B1-cristalina, γ D-cristalina, Hsp22, Hsp20, tau, Alfa-sinucleína, IAPP, β -amiloide, PrP, Huntingtina, Calcitonina, factor natriurético auricular, apolipoproteína A1, amiloide A sérico, Medina, Prolactina, Transtiretina, Lisozima, Beta 2 microglobulina, Gelsolina, Queratoepitelina, Cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, y S-IBM.
- 15 En algunos aspectos del sistema de cribado, el dispositivo es un dispositivo de fluorimetría de barrido diferencial de alto rendimiento.

El uso del compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II en cualquiera de los usos que se desvelan en el presente documento se contempla de forma específica. A este respecto, la invención proporciona un compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II para su uso en el tratamiento o la prevención de catarata, en el que se va a administrar una cantidad eficaz del compuesto a un individuo con necesidad del mismo.

Otros rasgos y ventajas de la presente divulgación serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

Descripción detallada de la invención

- 25 La divulgación proporciona inhibidores de la agregación de α -cristalina y procedimientos de uso de inhibidores de agregación de α -cristalina para, por ejemplo, tratar o prevenir cataratas en un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar cataratas. Los inhibidores de la agregación de α -cristalina de la invención son, por ejemplo, esteroides representados por la Fórmula I, la Fórmula IA, la Fórmula IB, y la Fórmula II y se pueden formular en composiciones farmacéuticas oftálmicas que comprenden un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable. Debido a que las cataratas afectan a una parte importante de la población (más de la mitad de todos los adultos de
- 30 más de 80 años de edad) y el tratamiento principal es intervención quirúrgica, los descubrimientos que se describen en el presente documento representan un avance significativo en las metodologías no quirúrgicas disponibles para tratar cataratas. Además, numerosos tratamientos no quirúrgicos en uso en la actualidad tienden a inhibir además la agregación de α -cristalina. De forma notable, los compuestos de la invención son capaces de invertir la agregación de α -cristalina e inhibir adicionalmente la agregación de α -cristalina.

- 35 La divulgación proporciona además procedimientos de alto rendimiento de cribado de compuestos para modulación de estabilidad térmica de proteínas, comprendiendo el procedimiento poner en contacto una proteína con cada uno de una pluralidad de compuestos de ensayo; y medir la transición de fusión (T_f) de la proteína en presencia de cada uno de la pluralidad de compuestos de ensayo, en el que un compuesto que disminuye o aumenta la T_f aparente en al menos 2 desviaciones típicas se identifica como una proteína chaperona farmacológica.

Procedimientos de tratamiento o prevención de catarata

En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o por ejemplo, un compuesto de la Tabla 1 para su uso en el tratamiento o la prevención de catarata, en el que la composición se va a administrar a un individuo con necesidad de la misma en una cantidad eficaz. En algunas realizaciones, la catarata es una catarata relacionada con la edad,

45 una catarata diabética, una catarata asociada a cirugía, una catarata que resulta de exposición a radiación, una catarata que resulta de enfermedad genética, una catarata que resulta de una infección, o una catarata que resulta de medicación. En algunas realizaciones, el individuo tiene una forma genética de catarata de inicio temprano. Por ejemplo, las formas hereditarias de catarata incluyen individuos con una mutación R120G y/o una mutación D109H en cryAB.

- 50 Un individuo "con necesidad de" tratamiento de acuerdo con la invención es un individuo que está padeciendo una catarata. Por ejemplo, el individuo puede tener una catarata relacionada con la edad o una catarata que resulta de tener diabetes. De forma similar, un individuo "con necesidad de" tratamiento de acuerdo con la invención es un individuo que se encuentra en riesgo de desarrollar una catarata. Los individuos en riesgo de desarrollar una catarata incluyen, pero no se limitan a, individuos con una historia familiar de desarrollar cataratas, individuos con una mutación asociada a una catarata de inicio temprano, tales como individuos con una mutación R120G y/o una mutación D109H en cryAB, individuos expuestos a radiación, diabéticos, y similares. Por ejemplo, en un aspecto, el individuo se ha diagnosticado con catarata en un ojo, y el compuesto se administra para prevenir o ralentizar la
- 55

formación de la catarata en el ojo contralateral.

El "tratamiento" de catarata no requiere una supresión de un 100 % de una catarata. De forma similar, la "prevención" no requiere una inhibición de un 100 % de la formación de catarata. Cualquier disminución de la opacidad o deceleración del progreso de catarata constituye un efecto biológico beneficioso en el sujeto. A este respecto, la invención reduce la catarata, por ejemplo, al menos aproximadamente un 5 %, al menos aproximadamente un 10 % o al menos aproximadamente un 20 % en comparación con los niveles observados en ausencia del procedimiento de la invención (por ejemplo, en un sujeto o muestra de control emparejado biológicamente que no está expuesto al compuesto del procedimiento de la invención). En algunas realizaciones, la catarata se reduce en al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, o al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, o más (aproximadamente un 100 %).

En algunas realizaciones, el "tratamiento" de cataratas de acuerdo con el procedimiento de la invención inhibe la formación de catarata, por ejemplo, en al menos un 5 %, al menos un 10 % o al menos un 20 % en comparación con los niveles observados en ausencia del procedimiento de la invención (por ejemplo, en un sujeto o muestra de control emparejado biológicamente que no está expuesto al compuesto del procedimiento de la invención). En algunas realizaciones, la catarata se reduce en al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, o al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, o más (aproximadamente un 100 %) en comparación con la formación de catarata en ausencia del compuesto del procedimiento de la invención. Las cataratas se detectan generalmente usando cualquiera de una diversidad de ensayos ópticos que incluyen, pero no se limitan a, ensayo de agudeza visual, oftalmoscopia, examen de lámpara de rendija, queratometría, tonometría, ensayo de contraste, sensibilidad a la luz, formación de un mapa de frente de onda.

Una "cantidad eficaz" de una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o un compuesto de la Tabla 1 es una cantidad que inhibe o reduce la agregación de una proteína formadora de amiloide tal como cryAB en un individuo. La agregación de la inhibición no requiere una inhibición de un 100 % de la agregación. Cualquier inhibición de la agregación constituye un efecto biológico beneficioso en un sujeto. A este respecto, la invención inhibe la agregación de una proteína formadora de amiloide, por ejemplo, al menos un 5 %, al menos un 10 % o al menos un 20 % en comparación con los niveles observados en ausencia del procedimiento de la invención (por ejemplo, en un sujeto o muestra de control emparejado biológicamente que no está expuesto al compuesto del procedimiento de la invención). En algunas realizaciones, la formación de agregados de amiloide se inhibe en al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, o al menos aproximadamente un 60 %. En algunas realizaciones, el procedimiento de la invención inhibe la formación de amiloide en al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, o más (aproximadamente un 100 %) en comparación con la formación de amiloide en ausencia del compuesto del procedimiento de la invención.

De forma similar, una "cantidad eficaz" para la reducción de la agregación no requiere una supresión de un 100 % de la agregación. Cualquier reducción de la agregación constituye un efecto biológico beneficioso en el sujeto. A este respecto, la invención reduce la agregación de una proteína formadora de amiloide, por ejemplo, al menos un 5 %, al menos un 10 % o al menos un 20 % en comparación con los niveles observados en ausencia del procedimiento de la invención (por ejemplo, en un sujeto o muestra de control emparejado biológicamente que no está expuesto al compuesto del procedimiento de la invención). En algunas realizaciones, los agregados de amiloide se reducen en al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, o al menos aproximadamente un 60 %. En algunas realizaciones, el procedimiento de la invención reduce los agregados de amiloide en al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, o más (aproximadamente un 100 %) en comparación con los agregados de amiloide en ausencia del compuesto del procedimiento de la invención.

Ruta de administración

Como entenderá el experto en la materia, el procedimiento más apropiado de administración de un compuesto a un sujeto depende de una diversidad de factores. En diversas realizaciones, el compuesto de acuerdo con la invención se administra por vía local al ojo, por ejemplo, por vía tópica, subconjuntiva, retrobulbar, periocular, subretiniana, supracoroidal, o intraocular. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la composición se suministra por vía local al ojo a través de inyección. Las soluciones inyectables se pueden inyectar directamente en la córnea, el cristalino y el humor vítreo o sus tejidos adyacentes usando una aguja fina. La composición también se puede administrar en forma de un perfusato intraocular.

Algunas rutas adicionales de administración contempladas incluyen, pero no se limitan a, una o más de: oral (por ejemplo, en forma de un comprimido, cápsula, o en forma de una solución ingerible), mucosa (por ejemplo, en forma de una pulverización nasal o aerosol para inhalación), nasal, parenteral (por ejemplo, mediante una forma inyectable), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intrauterina, intradérmica, intracraneal, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, subcutánea, transdérmica, rectal, bucal, epidural y sublingual.

En algunas realizaciones, el modo para el suministro de una composición de la invención al ojo es a través de una lente de contacto. La lente se puede proporcionar tratada previamente con el compuesto deseado. Alternativamente, la lente se proporciona en un kit con componentes para la preparación de una lente revestida, que se proporcionan en forma de polvos liofilizados para reconstitución o en forma de soluciones concentradas o listas para su uso. Las composiciones se pueden proporcionar en forma de kits para uso individual o usos múltiples.

En algunas realizaciones, el modo para el suministro de una composición de la invención al ojo es a través de una varilla oftálmica (Gwon y col., *Ophthalmology*, Septiembre de 1986;93(9 Suppl):82-5). En algunas realizaciones, el modo para el suministro de una composición de la invención al ojo es a través de un montaje de lente intraocular de hidrogel (Garty y col., *Invest Ophthalmol Vis Sci*, agosto de 2011 3;52(9):6109-16).

10 Dosis

La composición que comprende el compuesto se proporciona en una cantidad terapéuticamente eficaz que consigue un efecto biológico deseado con un nivel médicamente aceptable de toxicidad. La dosificación de las composiciones puede variar dependiendo de la ruta de administración y la gravedad de la enfermedad. La dosificación también se puede ajustar dependiendo del peso corporal, edad, sexo, y/o grado de síntomas de cada paciente que se trata. La dosis precisa y la ruta de administración estarán en última instancia a discreción del médico o veterinario al cargo. Se ha de entender que puede ser necesario realizar variaciones rutinarias en la dosificación dependiendo de la edad y el peso del paciente así como de la gravedad de la afección que se trata. La frecuencia de administración depende de la formulación y de los parámetros mencionados anteriormente. Por ejemplo, puede ser deseable aplicar gotas oculares al menos una vez al día, incluyendo 2, 3, 4, o 5 veces al día.

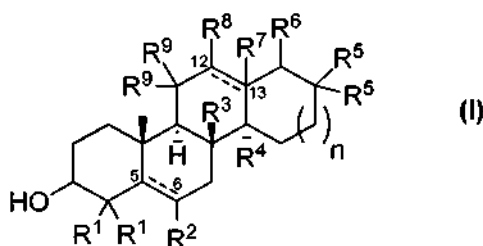
Algunas dosis a modo de ejemplo de los compuestos para administración a un ser humano (de aproximadamente 70 kg de peso corporal) a través de una ruta ocular son de 0,1 mg a 1 g, por ejemplo, de 1 mg a 500 mg del compuesto por dosis unitaria. En diversas realizaciones, la dosis es aproximadamente de 1 µg/kg de peso corporal a 15 mg/kg de peso corporal. Por ejemplo, la dosis puede ser 1 µg/kg, 5 µg/kg, 10 µg/kg, 20 µg/kg, 30 µg/kg, 40 µg/kg, 50 µg/kg, 60 µg/kg, 70 µg/kg, 80 µg/kg, 90 µg/kg, 100 µg/kg, 120 µg/kg, 140 µg/kg, 160 µg/kg, 180 µg/kg, 200 µg/kg, 300 µg/kg, 400 µg/kg, 500 µg/kg, 600 µg/kg, 700 µg/kg, 800 µg/kg, 900 µg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, o 15 mg/kg. Algunas dosis a modo de ejemplo de los compuestos para administración a un ser humano (de aproximadamente 70 kg de peso corporal) a través de una ruta sistémica son de 0,1 mg a 5 g, por ejemplo, de 1 mg a 2,5 g del compuesto por dosis unitaria.

Las concentraciones preferentes del compuesto de fórmula I, IA, IB, o II, o un compuesto enumerado en la Tabla 1, varían de aproximadamente 1 µg/ml a 500 µg/ml, por ejemplo, aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 2 µg/ml, aproximadamente 3 µg/ml, aproximadamente 4 µg/ml, aproximadamente 5 µg/ml, aproximadamente 10 µg/ml, aproximadamente 20 µg/ml, aproximadamente 30 µg/ml, aproximadamente 40 µg/ml, aproximadamente 50 µg/ml, aproximadamente 60 µg/ml, aproximadamente 70 µg/ml, aproximadamente 80 µg/ml, aproximadamente 90 µg/ml, aproximadamente 100 µg/ml, aproximadamente 120 µg/ml, aproximadamente 140 µg/ml, aproximadamente 160 µg/ml, aproximadamente 180 µg/ml, aproximadamente 200 µg/ml, aproximadamente 250 µg/ml, aproximadamente 300 µg/ml, aproximadamente 350 µg/ml, aproximadamente 400 µg/ml, aproximadamente 450 µg/ml, o aproximadamente 500 µg/ml. El inhibidor se puede proporcionar en combinación con otros agentes farmacéuticamente activos.

La composición de acuerdo con la invención se proporciona en un recipiente, ya sea en forma de un concentrado que se diluye antes de su uso en un diluyente apropiado o bien a la concentración lista para su uso. Preferentemente, se proporcionan dosificaciones individuales en viales estériles.

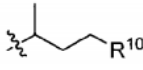
Compuestos eficaces en el tratamiento o la prevención de catarata

En diversas realizaciones, el compuesto o la composición que se desvela en el presente documento es un compuesto de fórmula I:

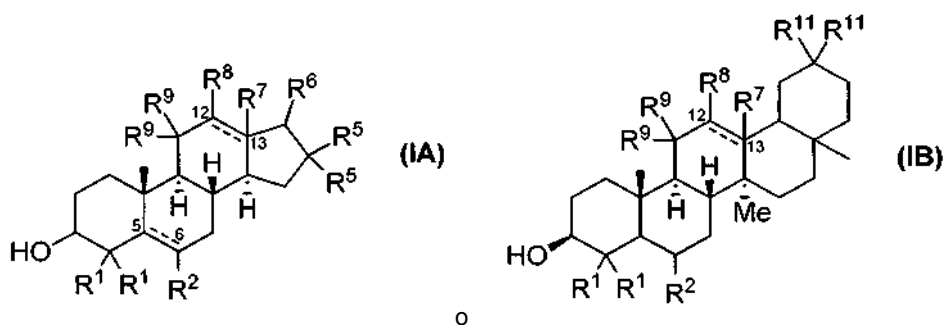


en la que:

ambos R^1 son H o ambos R^1 son Me;
 R^2 es H u OH;
 la línea punteada entre los carbonos 5 y 6 indica un doble enlace opcional;
 R^3 es H o Me;
 R^4 es H o Me;
 n es 0 o 1;

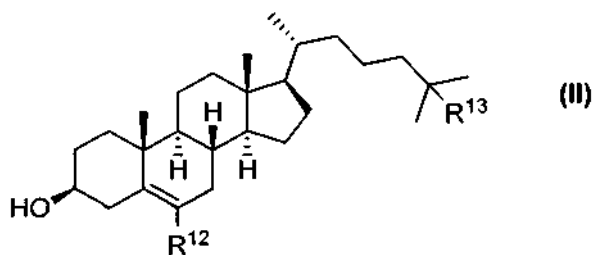
(a) R^6 es  y cada R^5 es independientemente H o Me o (b) R^6 y un R^5 tomados conjuntamente forman un anillo de 6 miembros opcionalmente sustituido y el otro R^5 es Me;
 la línea punteada entre los carbonos 12 y 13 es un doble enlace opcional, con la condición de que R^7 no esté presente cuando está presente el doble enlace entre los carbonos 12 y 13, y R^7 sea H o Me cuando no está presente el doble enlace entre los carbonos 12 y 13;
 R^8 es H u OH;
 ambos R^9 forman conjuntamente un oxo ($=O$) o ambos R^9 son hidrógeno; y
 R^{10} es CO_2H o alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado.

Por ejemplo, el compuesto o la composición que se desvela en el presente documento es un compuesto de fórmula IA o fórmula IB:



en las que cada R^{11} es independientemente alquilo, CO_2H , o CO_2 alquilo.

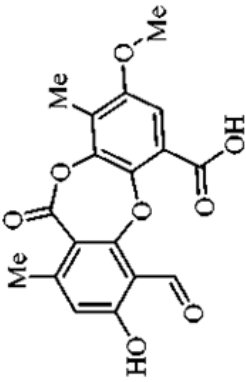
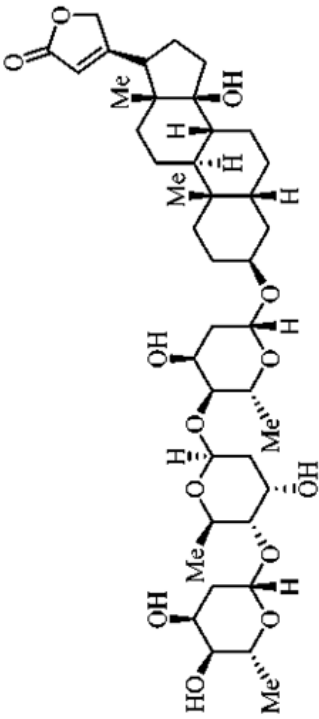
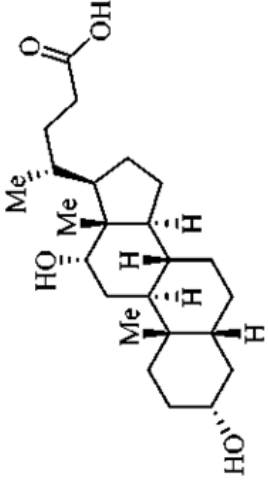
En diversas realizaciones, el compuesto tiene una estructura de fórmula II:



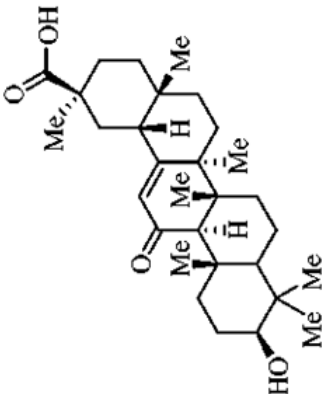
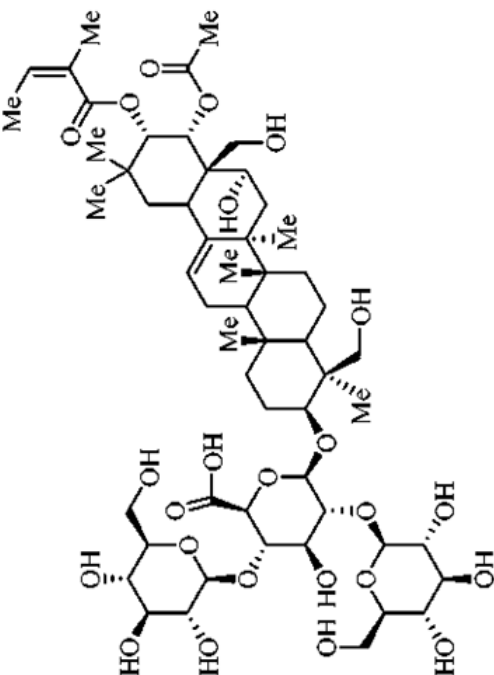
en la que R^{12} es H o OH y R^{13} es H o OH. En diversas realizaciones, el compuesto es 5-colesten-3 β ,25-diol.

Alternativamente, el compuesto es un compuesto enumerado en la Tabla 1.

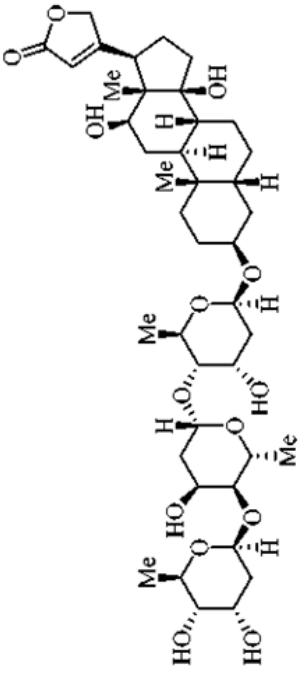
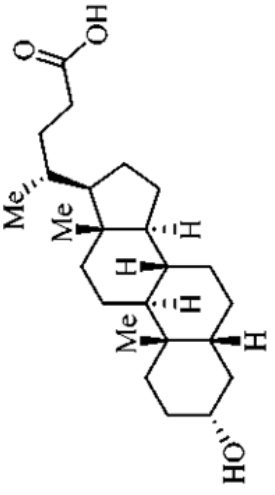
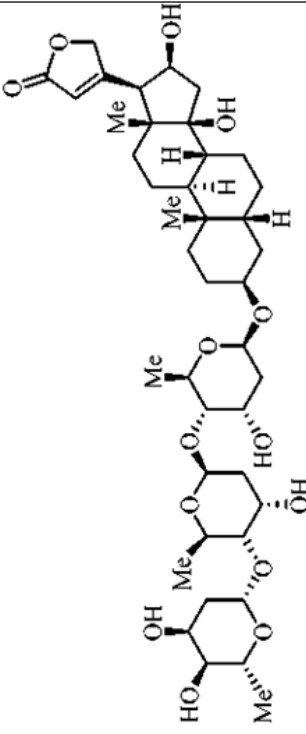
Apéndice B - Tabla 1

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	38361	ÁCIDO PSORÓMICO	Ácido 15-formil-14-hidroxi-6-metoxi-7,12-dimetil-10-oxo-2,9-dioxatriciclo[9.4.0.0 ^{3,8}]pentadeca-1(11),3(8),4,6,12,14-hexaeno-4-carboxílico
	38362	DIGITOXINA	4-[(2S,5S,7R,11S,14R,15R)-5-[[[(2R,4S,5S,6R)-5-[[[(2S,4S,5S,6R)-5-[[[(2S,4S,5S,6R)-4,5-dihidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi]-4-hidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi]-11-hidroxi-2,15-dimetiltetracilo[8.7.0.0 ^{2,7}].0 ¹]{1,15}}]heptadecan-14-il]-2,5-dihidrofuran-2-ona
	38631	ÁCIDO DESOXICÓLICO	Ácido (4R)-4-[(2S,5R,7R,14R,15R,16S)-5,16-dihidroxi-2,15-dimetiltetracilo[8.7.0.0 ^{2,7}].0 ¹]{1,15}}]heptadecan-14-il]pentanoico

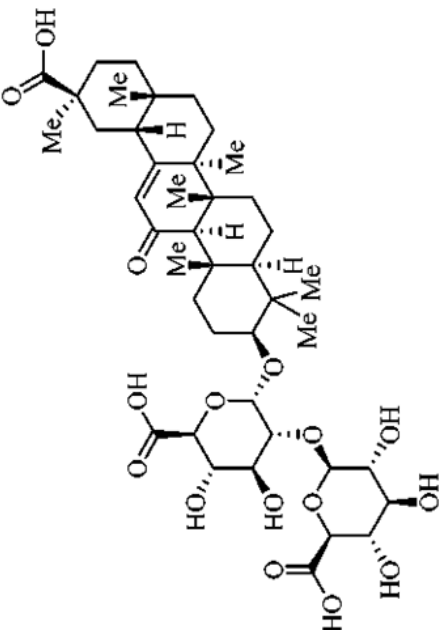
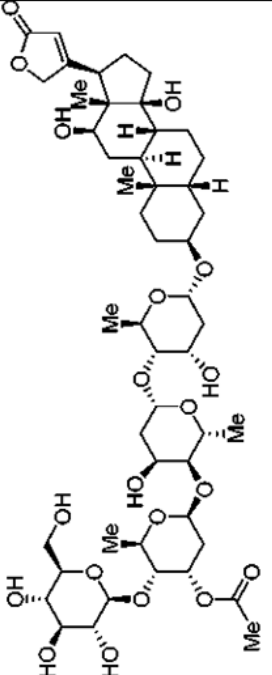
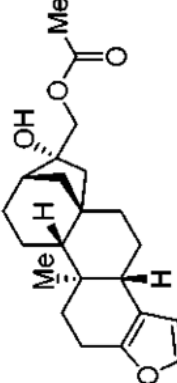
(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	38703	ENOXOLONA	Ácido (2S,4aS,6aS,6bR,10S,12aS,14bR)-10-hidroxi-2,4a,6a,6b,9,9,12a-heptametil-13-oxo-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,12b,13,14b-icosahidropiceno-2-carboxílico
	38719	beta-ESCINA	Ácido (2S,3S,4S,5R,6R)-6-{{[(3S,4S,6aR,6bS,8R,8aR,9R,10S,14bR)-9-(acetiloxi)-8-hidroxi-4,8a-bis(hidroximetil)-4,6a,6b,11,11,14b-hexametil-10-{{[(2Z)-2-metilbut-2-enil]oxi}-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-icosahidropicen-3-il]oxi}-4-hidroxi-3,5-bis{{[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxi}}]oxano-2-carboxílico

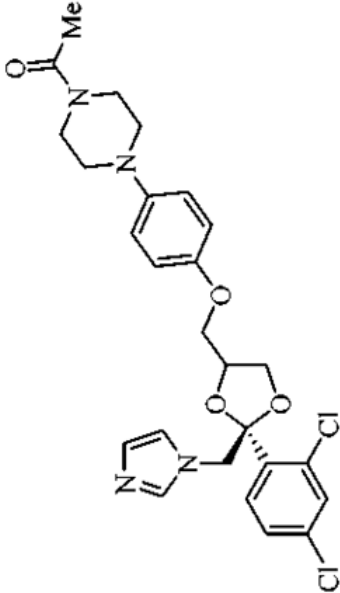
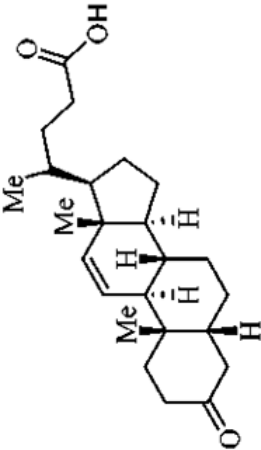
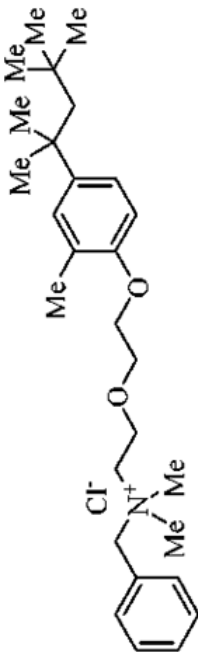
(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	38826	DIGOXINA	4-[(2S,5S,7R,11S,14R,15S,16R)-5-[[[(2R,4S,5S,6R)-5-[[[(2S,4S,5S,6R)-4,5-dihidroxi-6-metilo-xan-2-il]oxi]-4-hidroxi-6-metilo-xan-2-il]oxi]-11,16-dihidroxi-2,15-dimetiltetraciclo[8.7.0.0 ^Λ [2,7].0 ^Λ [11,15]]]heptadecan-14-il]-2,5-dihidrofuran-2-ona
	38850	ÁCIDO LITOCÓLICO	Ácido (4R)-4-[(2S,5R,7R,14R,15R)-5-hidroxi-2,15-dimetiltetraciclo[8.7.0.0 ^Λ [2,7].0 ^Λ [11,15]]]heptadecan-14-il]pentanoico
	38852	GITOXINA	4-[(2S,5S,7R,10R,11S,13S,14R,15R)-5-[[[(2R,4S,5S,6R)-5-[[[(4S,6R)-4,5-dihidroxi-6-metilo-xan-2-il]oxi]-4-hidroxi-6-metilo-xan-2-il]oxi]-4-hidroxi-6-metilo-xan-2-il]oxi]-11,13-dihidroxi-2,15-dimetiltetraciclo[8.7.0.0 ^Λ [2,7].0 ^Λ [11,15]]]heptadecan-14-il]-2,5-dihidrofuran-2-ona

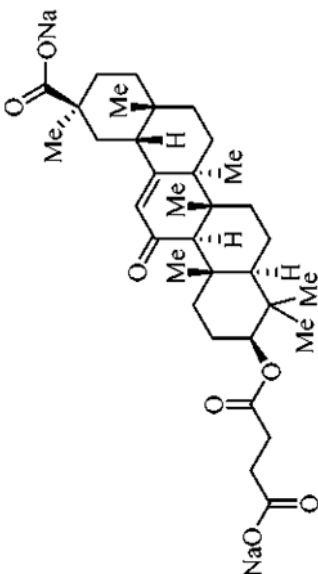
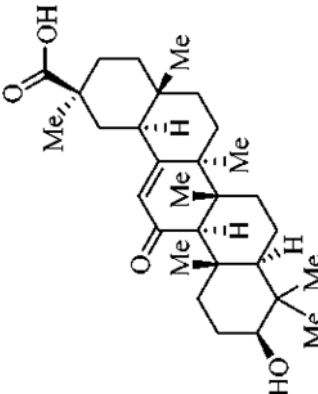
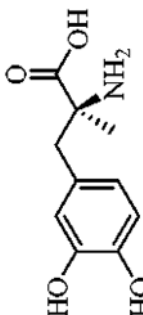
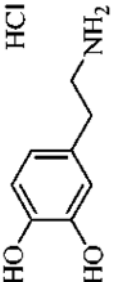
(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	38857	ÁCIDO GLICIRRIZICO	Ácido (2S,3S,4S,5R,6R)-6-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-carboxi-2-(((3S,4aR,6aR,6bS,8aS,11S,12aR,14aR,14bS)-11-carboxi-4,4,6a,6b,8a,11,14b-heptametil-14-oxo-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-icosahidropicen-3-il)oxi)-4,5-dihidroxitetrahydro-2H-piran-3-il)oxi)-3,4,5-trihidroxitetrahydro-2H-piran-2-carboxílico
	38866	LANATOSIDA C	Acetato de (2R,3R,4S,6S)-6-(((2R,3S,4S,6S)-6-(((2R,3S,4S,6R)-6-(((2S,5S,11S,14R,15S,16R)-11,16-dihidroxi-2,15-dimetil-14-(5-oxo-2,5-dihidrofuran-3-il)tetraciclo[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]]heptadecan-5-il)oxi)-4-hidroxi-2-metiloxan-3-il)oxi)-4-hidroxi-2-metiloxan-3-il)oxi)-2-metil-3-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il)oxi)oxan-4-ilo
	38894	ACETATO DE CAFESTOL	Acetato de [(1S,12R,16R,17R)-17-hidroxi-12-metil-8-oxapentaciclo[14.2.1.0^{1,13}.0^{4,12}.0^{5,9}]]nonadeca-5(9),6-dien-17-il]metilo

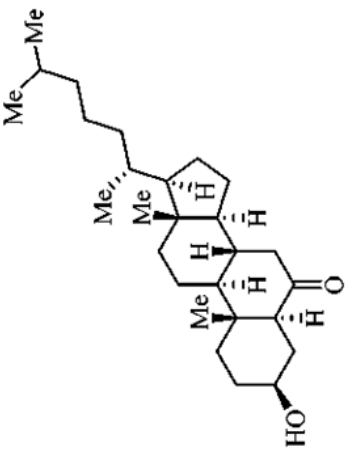
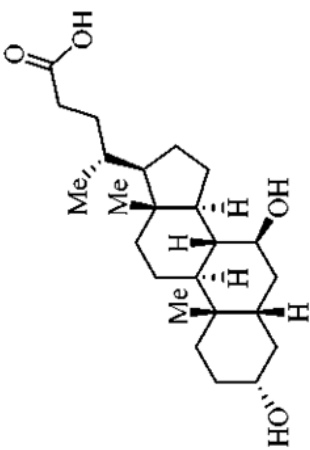
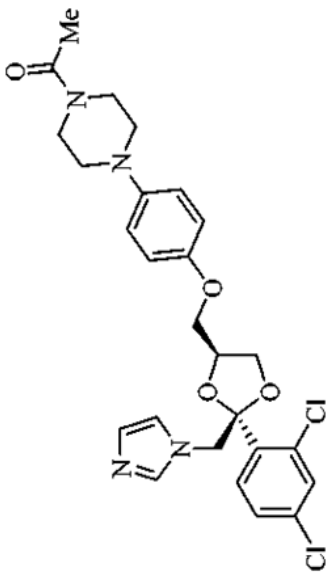
(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	38938	KETOCONAZOL	1-[4-(4-[(2R)-2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi}fenil)piperazin-1-il]etan-1-ona
	39166	ÁCIDO COL-11-ÉNICO	Ácido (4R)-4-[(2S,7R,14R,15R)-2,15-dimetil-5-oxotetraciclo[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]heptadec-16-en-14-il]pentanoico
	39322	CLORURO DE METILBENZETONIO	Cloruro de benzildimetil(2-{2-[2-metil-4-(2,4,4-trimetilpentan-2-il)fenoxi]etoxi}etil)azanio

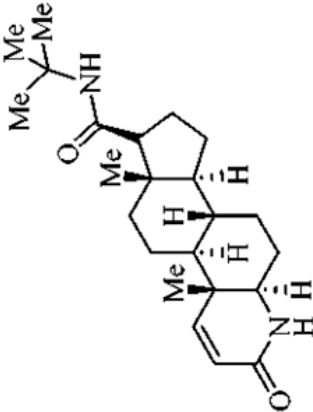
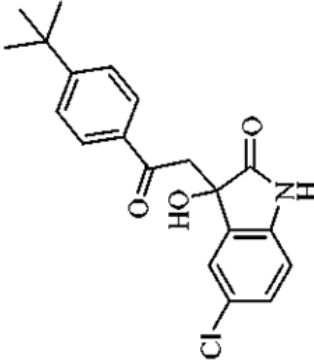
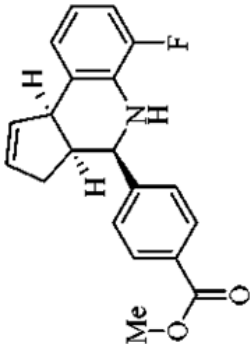
(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	39682	CARBENOXOLONA SÓDICA	(2S,4aS,6aS,6bR,10S,12aS,14bR)-10-[(3-carboxylatopropanoil)oxi]-2,4a,6a,6b,9,9,12a-heptametil-13-oxo-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,12b,13,14b-icosahidropiceno-2-carboxilato disódico
	39958	ÁCIDO 18alfa- GLICIRRETÍNICO	Ácido (2S,4aS,6aS,6bR,10S,12aS,14bS)-10-hidroxi-2,4a,6a,6b,9,9,12a-heptametil-13-oxo-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,12b,13,14b-icosahidropiceno-2-carboxílico
	40120	METILDOPA	Ácido 2-amino-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metilpropanoico
	40211	CLORHIDRATO DE DOPAMINA	Clorhidrato de 4-(2-aminoetil)benzeno-1,2-diol

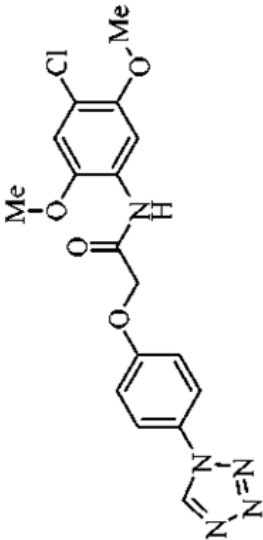
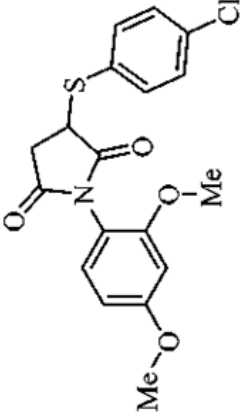
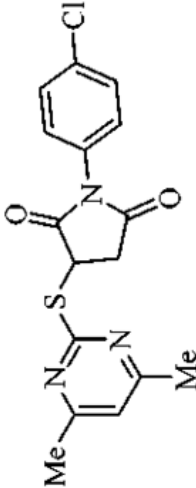
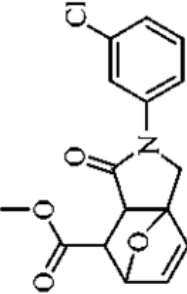
(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	40270	5alfa-COLESTAN-3beta-OL-6-ONA	(2R,5S,7S,15R)-5-hidroxi-2,15-dimetil-14-(6-metilheptan-2-il)tetraciclo[8.7.0.0 ^Λ {2,7}.0 ^Λ {1,15}}heptadecan-8-ona
	40274	URSODIOL	Ácido (4R)-4-[(2S,5R,7S,9S,14R,15R)-5,9-dihidroxi-2,15-dimetiltetraciclo[8.7.0.0 ^Λ {2,7}.0 ^Λ {1,15}}heptadecan-14-il]pentanoico
	100815	CPD000058460_KETOCONAZOL	1-[4-(4-[[[(2R,4S)-2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazin-1-il]etan-1-ona

(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	100937	CPD000466304_ FINASTERIDA	(1S,2R,7R,10S,11S,14S,15S)-N-terc-butil-2,15-dimetil-5-oxo-6-azatetraciclo[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]heptadec-3-eno-14-carboxamida
	22428		3-[2-(4-terc-butilfenil)-2-oxoetil]-5-cloro-3-hidroxi-2,3-dihidro-1H-indol-2-ona
	22775		4-[(2R,6S,7R)-10-fluoro-8-azatriciclo[7.4.0.0^{2,6}]]trideca-1(13),3,9,11-tetraen-7-il]benzoato de metilo

(continuación)

ESTRUCTURA	CCGID	NOMBRE	IUPAC
	108668		N-(4-cloro-2,5-dimetoxifenil)-2-[4-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenoxi]acetamida
	109888		3-[(4-clorofenil)sulfanil]-1-(2,4-dimetoxifenil)pirrolidina-2,5-diona
	112216		1-(4-clorofenil)-3-[(4,6-dimetilpirimidin-2-il)sulfanil]pirrolidina-2,5-diona
	116781		3-(3-clorofenil)-4-oxo-10-oxa-3-azatriciclo[5.2.1.0^{1,5}]dec-8-eno-6-carboxilato de metilo

Composiciones farmacéuticas

La divulgación se refiere además a una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o un compuesto enumerado en la Tabla 1, y un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un excipiente, vehículo, aglutinante, y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, la composición incluye un ácido libre, base libre, sal (por ejemplo, una sal de adición de ácido o base), hidrato o profármaco del compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o un compuesto enumerado en la Tabla 1. El profármaco es un material que incluye el compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o un compuesto enumerado en la Tabla 1, unido covalentemente a un resto de vehículo. El resto de vehículo se puede liberar del compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o un compuesto enumerado en la Tabla 1, *in vitro* o *in vivo* para producir el compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o un compuesto enumerado en la Tabla 1. Las formas de profármaco se conocen bien en la técnica como se muestra a modo de ejemplo en Sloan, K. B., *Prodrugs*, M. Dekker, Nueva York, 1992; y Testa, B. y Mayer, J. M., *Hydrolysis in drug and prodrug metabolism: chemistry, biochemistry, and enzymology*, Wiley-VCH, Zurich, 2003.

En diversas realizaciones, la composición que se desvela en el presente documento comprende el compuesto de una cualquiera de las fórmulas estructurales I, IA, IB, o II, o un compuesto enumerado en la Tabla 1, formulada en forma de gotas oculares, soluciones inyectables o pomadas oculares. Estas composiciones farmacéuticas se pueden formular por mezcla, dilución o disolución del compuesto, opcionalmente con aditivos farmacéuticamente apropiados tales como excipientes, disgregantes, aglutinantes, lubricantes, diluyentes, tampones, antisépticos, agentes humectantes, emulgentes, agentes de dispersión, agentes estabilizantes y adyuvantes de disolución de acuerdo con procedimientos convencionales y formulación de forma convencional dependiendo de la forma de dosificación. Por ejemplo, se pueden formular gotas oculares por disolución del compuesto en agua esterilizada en la que se disuelve un agente tensioactivo y adición opcional de aditivos farmacéuticamente apropiados tales como un conservante, un agente estabilizante, un tampón, un antioxidante y un mejorador de la viscosidad. En algunas realizaciones, la composición incluye una ciclodextrina. En una realización específica, la ciclodextrina es (2-hidroxiopropil)- β -ciclodextrina.

Los tampones fisiológicamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, un tampón fosfato Tris-HCl (que comprende tris(hidroximetil)aminometano y HCl). Por ejemplo, un tampón Tris-HCl que tiene un pH de 7,4 comprende 3 g/l de tris(hidroximetil)aminometano y 0,76 g/l de HCl. En otro aspecto más, el tampón es solución salina tamponada con fosfato 10 x (phosphate buffer saline, "PBS") o solución de PBS 5 x.

Otros tampones incluyen, pero no se limitan a, tampones basados en HEPES (N-{2-hidroxietyl}piperazina-N'-(ácido 2-etanosulfónico)) que tiene un pK_a de 7,5 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 6,8-8,2; BES (ácido N,N-bis{2-hidroxietyl}2-aminoetanosulfónico) que tiene un pK_a de 7,1 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 6,4-7,8; MOPS (ácido 3-{N-morfolino}propanosulfónico) que tiene un pK_a de 7,2 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 6,5-7,9; TES (ácido N-tris(hidroximetil)-metil-2-aminoetanosulfónico) que tiene un pK_a de 7,4 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 6,8-8,2; MOBS (ácido 4-{N-morfolino}butanosulfónico) que tiene un pK_a de 7,6 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 6,9-8,3; DIPSO (3-(N,N-bis{2-hidroxietyl}amino)-2-hidroxiopropano)) que tiene un pK_a de 7,52 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 7-8,2; TAPSO (ácido 2-hidroxi-3{tris(hidroximetil)metilamino}-1-propanosulfónico)) que tiene un pK_a de 7,61 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 7-8,2; TAPS (ácido {(2-hidroxi-1,1-bis(hidroximetil)etil)amino}-1-propanosulfónico)) que tiene un pK_a de 8,4 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 7,7-9,1; TABS (ácido N-tris(hidroximetil)metil-4-aminobutanosulfónico) que tiene un pK_a de 8,9 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 8,2-9,6; AMPPO (ácido N-(1,1-dimetil-2-hidroxietyl)-3-amino-2-hidroxiopropanosulfónico)) que tiene un pK_a de 9,0 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 8,3-9,7; CHES (ácido 2-ciclohexilamino)etanosulfónico) que tiene un pK_a de 9,5 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 8,6-10,0; CAPSO (ácido 3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propanosulfónico) que tiene un pK_a de 9,6 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 8,9-10,3; y CAPS (ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico) que tiene un pK_a de 10,4 a 25 °C y un pH en el intervalo de aproximadamente 9,7-11,1.

Están disponibles cierto número de procedimientos eficaces para la liberación controlada de un agente activo. Véase, por ejemplo, Wagh V. D., Inamdar B., Samanta M. K., *Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems*. *Asian J Pharm* 2, 2008, 12-17 y las referencias bibliográficas que se citan en el mismo. Se contempla específicamente el uso de polímeros (por ejemplo, derivados de celulosa tales como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y hidroxipropilcelulosa (HPC), poli(ácido acrílico) (PAA), poliácridatos, ciclodextrinas y gomas naturales, poliolefinas (POE) y polímeros mucoadhesivos); semisólidos tales como geles, películas y otros insertos; resinas tales como resinas de intercambio iónico; suministro iontoforético; y partículas coloidales tales como microesferas y nanopartículas.

Los compuestos de la invención también se pueden proporcionar en combinación con otros agentes terapéuticos. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden formular conjuntamente con un analgésico, un anestésico, lágrimas artificiales, un inhibidor enzimático, un inhibidor de citoquina, un antiinflamatorio, o un antibiótico. En algunas realizaciones, el antibiótico es un agente antibacteriano, antiviral, antifúngico, antiprotazoario, o una combinación de los mismos.

En diversas realizaciones, los compuestos de la invención también se pueden proporcionar en combinación con un compuesto terapéutico ocular seleccionado entre el grupo que consiste en Acular (solución oftálmica de ketorolaco trometamina) al 0,5 %, Acuvail (ketorolaco trometamina), AK-Con-A (nafazolina oftálmica), Akten (clorhidrato de lidocaína), Alamast, Alphagan (brimonidina), Alrex, Astepro (pulverización nasal de clorhidrato de azelastina), AzaSite (azitromicina), Bepreve (solución oftálmica de besilato de bepotastina), Besivance (suspensión oftálmica de besifloxacin), Betaxon, Solución de irrigación estéril BSS, Cosopt, Durezol (difluprednato), Eylea (aflibercept), Lotemax, Lucentis (ranibizumab), Lumigan (solución oftálmica de bimatoprost), Macugen (pegaptanib), Ocuflor (solución oftálmica de ofloxacino) al 0,3 %, OcuHist, Ozurdex (dexametasona), Quixin (levofloxacino), Rescula (solución oftálmica de isopropil unoprostone) al 0,15 %, Restasis (emulsión oftálmica de ciclosporina), Salagen Comprimidos, Travatan (solución oftálmica de travoprost), Valcyte (valganciclovir HCl), Viroptic, Vistide (cidofovir), Visudyne (verteporfin para inyección), Vitrasert Implante, Vitravene Inyección, ZADITOR, Zioptan (solución oftálmica de tafluprost), Zirgan (gel oftálmico de ganciclovir), Zymaxid (solución oftálmica de gatifloxacino), Atropina, Flurbiprofeno, Fisostimina, Azopt, Gentamicina, Pilocarpina, Bacitracina, Goniosol, Polimixina B, Betadine, Gramicidina, Prednisolona, Betaxolol, Humorsol, Proparacaina, Betoptic, Hylartin, Propina, Brinzolamida, NaCl hipertónico, Puralube, BSS, Indocianina verde, Rosa de Bengala, Carbacol, Itraconazol, Hialuronato sódico, Cefazolina, Latanoprost, Suprofen, Celluvisc, Manitol, Terramicina, Cloramfenicol, Metazolamida, Timolol, Ciloxano, Miconazol, Tobramicina, Ciprofloxacino, Miostat, Triamcinolona, Cosopt, Muro 128, Trifluridina, Demecarium, Neomicina, Tropicamida, Dexametasona, Neptazano, Trusopt, Dipivefrina, Ocuflor, Vidarabina, Dorzolamida, Ofloxacino, Vira-A, Epinefrina, Oxitetraciclina, Viroptic, Fluoresceína, Fenilefrina, y Xalatan.

20 *Procedimientos y sistemas de cribado*

En diversas realizaciones, la divulgación se refiere a un procedimiento de alto rendimiento de cribado de compuestos para modulación de estabilidad térmica de proteínas. El procedimiento comprende (a) poner en contacto una proteína con cada uno de una pluralidad de compuestos de ensayo; y (b) medir la transición de fusión (T_f) de la proteína en presencia de cada uno de la pluralidad de compuestos de ensayo, en el que un compuesto que disminuye o aumenta la T_f aparente en al menos 2 desviaciones típicas es una proteína chaperona farmacológica. En diversas realizaciones, un compuesto que disminuye o aumenta la T_f aparente en al menos 3 desviaciones típicas es una proteína chaperona farmacológica.

Un agente que modula la estabilidad térmica de proteína se puede identificar usando fluorimetría de barrido diferencial (DSF). En la DSF, se mide la transición de fusión (T_f) de la proteína diana en presencia de un ligando potencial. DSF mide el desdoblamiento térmico de la proteína diana a través de la fluorescencia de triptófanos intrínsecos, o un colorante, tal como 1,8-anilino-naftalenosulfónico (bis-ANS) o Sypro Orange. La unión de un ligando añade energía libre al estado plegado o los compuestos intermedios clave, lo que limita el desdoblamiento y desplaza la T_f aparente. De ese modo, en algunas realizaciones, la transición de fusión se determina usando un dispositivo de fluorimetría de barrido diferencial de alto rendimiento, tal como una plataforma de DSF de 384 pocillos ThermoFluor®, o una termocicladora de PCT de tiempo real.

En diversas realizaciones del procedimiento de cribado que se desvela en el presente documento, la etapa en la que se mide la transición de fusión comprende las etapas de: (b1) calentar la proteína en presencia de cada uno de una pluralidad de compuestos de ensayo de 50 °C a 80 °C, (b2) enfriar la proteína a 25 °C, (b3) mantener la proteína a 25 °C durante 10 segundos, y (b4) medir la fluorescencia de la proteína. En realizaciones más específicas, el procedimiento comprende además repetir las etapas (b1)-(b4) entre 2 y 30 veces, en el que cada repetición de la etapa (b1) se realiza con una temperatura gradualmente mayor. Por ejemplo, durante la primera iteración, la proteína se calienta a 65 °C en presencia de un compuesto de ensayo y se enfría a 25 °C donde se mantiene durante aproximadamente 10 segundos antes de que se mida la fluorescencia de la proteína. Durante la segunda iteración, la proteína se calienta a 66 °C en presencia de un compuesto de ensayo y se enfría a 25 °C donde se mantiene durante aproximadamente 10 segundos antes de que se mida la fluorescencia de la proteína. Este procedimiento se repite (por ejemplo entre 2 y 30 veces) mientras se aumenta la temperatura de pico a la que se calienta la proteína, por ejemplo, en incrementos de 1 °C. En algunas realizaciones, durante la etapa (b1), la proteína se equilibra a la temperatura de pico entre 60 y 180 segundos. En realizaciones específicas del procedimiento que se desvela en el presente documento, la etapa de equilibrado es de 130 segundos.

En diversas realizaciones del procedimiento de cribado que se desvela en el presente documento la etapa en la que se mide la transición de fusión comprende calentar gradualmente la proteína en presencia de cada uno de una pluralidad de compuestos de ensayo a 80 °C mientras se mide continuamente la fluorescencia de la proteína.

En diversos aspectos del procedimiento de cribado que se desvelan en el presente documento, la proteína es una proteína formadora de amiloide. Generalmente, cuando la proteína es una proteína formadora de amiloide, el modulador deseado disminuye la transición de fusión de la proteína. Tan modulador estabiliza la forma no amiloide de la proteína. En algunas realizaciones, la proteína formadora de amiloide se selecciona entre el grupo que consiste en Hsp27, α A-cristalina (catarata), α B-cristalina (catarata), β B2-cristalina (catarata), β B1-cristalina (catarata), γ D-cristalina (catarata), Hsp22, Hsp20, tau, Alfa-sinucleína (enfermedad de Parkinson), LAPP (diabetes mellitus de tipo 2), beta-amiloide (enfermedad de Alzheimer), PrP (encefalopatía espongiforme transmisible), Huntingtina (enfermedad de Huntington), Calcitonina (carcinoma medular de tiroides), factor natriurético auricular (amiloidosis auricular aislada), apolipoproteína A1 (aterosclerosis), amiloide A sérico (artritis reumatoide), Medina (amiloidosis

medial aórtico), Prolactina (Prolactinomas), Transtiretina (polineuropatía amiloide familiar), Lisozima (amiloidosis sistémica no neuropática hereditaria), Beta 2 microglobulina (amiloidosis relacionada con la diálisis), Gelsolina (amiloidosis de tipo finlandés), Queratoepitelina (distrofia corneal reticular), Cistatina (angiopatía amiloide cerebral: de tipo islandesa), cadena ligera de inmunoglobulina AL (amiloidosis AL sistémica), miocilina (glaucoma), y S-LBM (miositis con cuerpos de inclusión esporádicos).

En algunas realizaciones del procedimiento de cribado que se desvela en el presente documento, la proteína es una proteína subyacente a una enfermedad de pérdida de función. Generalmente, cuando la proteína es una proteína subyacente a una enfermedad de pérdida de función, el modulador deseado aumenta la transición de fusión de la proteína. Tal modulador estabiliza la forma mutante de la proteína de un modo tal que permanece activa (es decir, se reduce la degradación de la proteína). La proteína subyacente a una enfermedad de pérdida de función puede ser, por ejemplo, β -glucosidasa mutante, glucosilceramidasa mutante (enfermedad de Gaucher), receptor de transmembrana de fibrosis quística mutante (fibrosis quística), hexosaminidasa A mutante (enfermedad de Tay-Sachs), hexosaminidasa B mutante (enfermedad de Sandhoff), β -galactosidasa mutante (síndrome de Morquio), y alfa-glucosidasa mutante (es decir, enfermedad de Pompe).

En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un sistema de cribado de alto rendimiento, que comprende: (a) una proteína formadora de amiloide; (b) un dispositivo capaz de medir la transición de fusión (T_f) de la proteína formadora de amiloide; y (c) una pluralidad de compuestos de ensayo. El dispositivo capaz de medir la T_f de la proteína formadora de amiloide puede ser cualquier dispositivo conocido en la técnica. Como se ha indicado anteriormente, en algunas realizaciones, el dispositivo es un dispositivo de fluorimetría de barrido diferencial, tal como una plataforma de DSF de 384 pocillos ThermoFluor®. En diversos aspectos del sistema de cribado, la proteína se selecciona entre el grupo que consiste en Hsp27, α A-cristalina, α B-cristalina, β B2-cristalina, β B1-cristalina, γ D-cristalina, Hsp22, Hsp20, tau, Alfa-sinucleína, IAPP, beta-amiloide, PrP, Huntingtina, Calcitonina, factor natriurético auricular, apolipoproteína A1, amiloide A sérico, Medina, Prolactina, Transtiretina, Lisozima, Beta 2 microglobulina, Gelsolina, Queratoepitelina, Cistatina, cadena ligera de inmunoglobulina AL, y S-IBM.

Ejemplos

Los siguientes son ejemplos no limitantes de diversos aspectos de los procedimientos que se describen en el presente documento. Los ejemplos se dan únicamente con fines de ilustración y no se pretende que limiten la divulgación, dado que son posibles numerosas variaciones de la misma.

Ejemplo 1

Este Ejemplo describe un procedimiento de alto rendimiento de cribado para compuestos que estabilizan una proteína propensa a la agregación a modo de ejemplo, Hsp27.

Se utilizó fluorimetría diferencial de barrido (DSF) para identificar los compuestos que estabilizan cryAB. En los experimentos de DSF se mide la transición de fusión (T_f) de la proteína diana en presencia de ligandos potenciales (Cummings y col., *J Biomol Screen* 11, 854 (2006). DSF mide el desdoblamiento térmico de la proteína diana a través de la fluorescencia de triptófanos intrínsecos, o (más habitualmente) un colorante, tal como 1,8-anilinoftalenosulfónico (bis-ANS) o Sypro Orange. La unión de un ligando añade energía libre al estado plegado o los compuestos intermedios, lo que limita el desdoblamiento y desplaza la T_f aparente. Estos valores se usan para calcular la transición de desdoblamiento. Cuando los compuestos se unen a la diana antes de calentamiento, estabilizan frente al desdoblamiento, desplazando la ΔT_f . Para el caso de cryAB y la cryAB R120G mutante, se buscaron compuestos que reducen la T_f aparente, debido a que los amiloides tienen por lo general una estabilidad aparente mayor en esta plataforma. Por ejemplo, la T_f de cryAB de tipo silvestre fue de $64,1 \pm 0,5$ °C, mientras que el cryAB R120G mutante más propenso al amiloide tuvo un T_f aparente de $68,3 \pm 0,2$ °C (3). Esta diferencia correlacionó con el aumento de propensión a amiloide de R120G. De ese modo, se razonó que los "aciertos" de cribado que reducen la T_f aparente podrían suprimir la agregación.

Usando una plataforma de DSF de 384 pocillos miniaturizada (ThermoFluor®), se analizaron sistemáticamente 2446 compuestos para la capacidad de bloquear la agregación de una sHSP. Como modelo, se usó Hsp27 humana para HTS debido a que forma con facilidad amiloides y retiene el dominio de cristalina altamente conservado encontrado en todas las sHSP. Hsp27 fue soluble a temperatura ambiente, pero se desdobló térmicamente y formó rápidamente amiloides estables después de calentamiento.

El cribado se realizó en un volumen de 7 μ l, con Hsp27 10 μ M en NaPO₄ 50 mM, pH 7,4, NaCl 700 mM, LiCl 50 mM, y bis-ANS 100 μ M en placas de PCR de 384 pocillos de color negro de Abgene. Las reacciones se cubrieron con aceite de silicona para limitar la evaporación. Los ensayos de control sugirieron que el ensayo toleraba hasta un 4 % de DMSO pero se usó un 1 % como concentración final. Las placas se midieron en modo arriba/abajo, que se determinó empíricamente para dar una mejor señal con respecto al ruido que el modo de rampa continua. Las placas se calentaron de 65 °C a 80 °C en incrementos de 1 °C, se equilibraron durante 130 segundos a cada temperatura elevada, se enfriaron a 25 °C, y se mantuvieron durante 10 segundos a 25 °C antes de la formación de imágenes con una exposición individual de 10 segundos para cada lectura de temperatura. Los ensayos de uniformidad de placa a midieron la T_f de Hsp27 a $72,3 \pm 0,16$ °C. El factor Z se calculó para variar entre -0,59 y 0,71 y el CV fue de

un 8 %. La mayoría de la variabilidad pareció surgir de algunos "efectos de borde".

Para cada pocillo, se obtuvieron una serie de puntos de fluorescencia frente a temperatura, se representaron y se ajustaron para determinar la T_f . Se desarrolló un procedimiento automatizado en MatLab que realiza los ajustes individuales y a continuación califica cada pocillo de ensayo basándose en lo bien que se ajusta a tres procedimientos independientes de ajuste (derivada de Savitzky-Golay, curva sigmoidea y línea base paralela de Hill).

A partir del cribado primario, se identificaron por 45 compuestos que disminuyeron la T_f aparente en más de tres desviaciones típicas ($-3SD$; $\sim 0,6^\circ\text{C}$) y 45 compuestos que aumentaron la T_f en $+3SD$. Los 90 compuestos se exploraron en experimentos de dependencia de dosis para confirmar su actividad y, a partir de esos estudios, 64 tuvieron una actividad por debajo de $50\text{ }\mu\text{M}$. Los 45 compuestos identificados que disminuyeron la T_f aparente en más de tres desviaciones típicas se sometieron a ensayo en ensayos de dependencia de dosis de 12 puntos, para proporcionar 28 que también confirmaron y desplazaron ΔT_f a concentraciones de menos de $20\text{ }\mu\text{M}$. De forma interesante, 12 de estos 28 fueron parte de una clase estructural individual de esteroides relacionados. Este andamio se seleccionó para investigación adicional.

Tomados conjuntamente, estos estudios validan el procedimiento de HTS como un medio robusto para identificar chaperonas farmacológicas para proteínas formadoras de amiloide, tales como cryAB. De hecho, el estudio valida el procedimiento de HTS para descubrir agentes que modulan T_f para cualquier proteína en el que se desee un aumento (por ejemplo, proteínas de pérdida de función tales como la forma mutante de alfa-glucosidasa responsable de la enfermedad de Pompe) o disminución (proteínas propensas a la agregación tales como Huntingtina) de estabilidad.

Ejemplo 2

Este Ejemplo describe estudios de relación estructura-actividad (SAR) de un andamio de esteroide identificado en el cribado primario del Ejemplo 1. Como se describe adicionalmente más adelante, SAR reveló una estructura química general (Fórmula I) para los compuestos que reducen la T_f de una proteína formadora de amiloide, R120G cryAB, en al menos 2°C .

Se recogieron treinta y dos esteroides con estructuras químicas relacionadas con la 17-a-hidroxi-progesterona y se sometieron a ensayo adicional (véase la Tabla 2). Se realizaron experimentos de DSF en esta colección enfocada usando cryAB R120G y se identificaron dos compuestos que redujeron T_f en al menos 2°C : 5a-colestan-3b-ol-6-ona y 5-colesten-3b,25-diol. Muchos de los demás esteroides estrechamente relacionados, incluyendo el colesterol, fueron inactivos y la SAR resultante apoyó una interacción molecular bastante específica.

Tabla 2

NOMBRE	ACTIVIDAD (desplazamiento en estabilidad térmica a $100\text{ }\mu\text{M}$)
5-colesten-3b,25-diol	$-2,0^\circ\text{C}$
5a-colestan-3b-ol-6-ona	$-3,0^\circ\text{C}$
5-colesten-3b-ol	$-1,1^\circ\text{C}$
etiocolan-17b-ol-3-ona	$+1,7^\circ\text{C}$
17-a-hidroxi-progesterona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
5a-androstan-3b,17b-diol	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
17a-hidroxi-pregnenolona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
5-a-androstan-3,17-diona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
epiandrosterona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
progesterona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
deshidroisoandrosterona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
D4-androsten-3,17-diona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
b-estradiol	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C
testosterona	entre $+1^\circ\text{C}$ y -1°C

(continuación)

NOMBRE	ACTIVIDAD (desplazamiento en estabilidad térmica a 100 μ M)
corticosterona	entre +1 °C y -1 °C
cortisona	entre +1 °C y -1 °C
estriol	entre +1 °C y -1 °C
4-colesten-3-ona	entre +1 °C y -1 °C
colesterol	entre +1 °C y -1 °C
hidrocortisona	entre +1 °C y -1 °C
estrone	entre +1 °C y -1 °C
D5-pregnen-3 β -ol-20-ona	entre +1 °C y -1 °C
acetato de testosterona	entre +1 °C y -1 °C
desoxicorticosterona	entre +1 °C y -1 °C
androsterona	entre +1 °C y -1 °C
corticosterona-21-acetato	entre +1 °C y -1 °C
digitonina	entre +1 °C y -1 °C
5-colesten-3 β -ol-7-ona	entre +1 °C y -1 °C
ácido ursodesoxicólico	entre +1 °C y -1 °C
6-cetocolesterol	entre +1 °C y -1 °C
ácido 18- α -glicirretínico	entre +1 °C y -1 °C

Los estudios de dependencia de dosis adicionales con 5 α -coleston-3 β -ol-6-ona, 5-coleston-3 β ,25-diol, y colesterol mostraron que tanto 5 α -coleston-3 β -ol-6-ona como 5-coleston-3 β ,25-diol fueron capaces de recuperar parcialmente la T_f de tipo salvaje, lo que indica su capacidad como chaperonas farmacológicas. Para confirmar la interacción directa con cryAB en una plataforma experimental distinta, se usó interferometría de biocapa (descrita en el Ejemplo 1) para determinar que 5-coleston-3 β ,25-diol se une a cryAB R120G con una K_D de $10,1 \pm 4,4 \mu$ M. La medición de la afinidad por la proteína de ensayo mediante interferometría de biocapa (Octet Red) permite la identificación de falsos positivos. En resumen, se inmoviliza cryAB biotinado en agujas revestidas con estreptoavidina y se analizan los datos de asociación de equilibrio a través de un intervalo de concentración de cien veces para generar la K_D aparente. Para controlar la unión no específica, se resta la respuesta de una aguja bloqueada con biotina de cada sensograma.

Tomados en su conjunto, los resultados anteriores demuestran que los compuestos de Fórmula I funcionan como chaperonas farmacológicas para cryAB R120G *in vitro* y se unen con alta afinidad. Además, los resultados indican que los procedimientos de DSF desvelados representan un sistema de cribado de alto rendimiento robusto para la identificación de nuevas chaperonas farmacológicas para no enzimas.

Ejemplo 3

Este Ejemplo demuestra que los compuestos identificados en el Ejemplo 1 suprimen la formación de amiloide. De forma significativa, los compuestos también son capaces de formación de amiloide inversa.

Los estudios de DSF sugirieron que los esteroides suprimen la formación de amiloide cryAB R120G. Para someter a ensayo esta idea, se trató, cryAB R120G (15 μ M) con 5-coleston-3 β ,25-diol o colesterol (100 μ M) y se midió su estabilidad para agregar mediante microscopio electrónico. Estos estudios confirmaron que 5-coleston-3 β ,25-diol, pero no el colesterol o el control de disolvente, suprimieron drásticamente la formación de amiloide. La inspección visual de las soluciones apoyó esta conclusión debido a que solo 5-coleston-3 β ,25-diol redujo la opacidad de la mezcla cryAB R120G. Además, 5-coleston-3 β ,25-diol también revertió la agregación de los amiloides cryAB R120G formados previamente, lo que sugiere que desplaza el equilibrio hacia estructuras no amiloides.

Para explorar el mecanismo de acción de 5-coleston-3 β ,25-diol, se exploró el sitio de unión en cryAB R120G mediante RMN 15 N HSQC, y el análisis de los desplazamientos químicos resultantes sugirió que se une a una cara expuesta del dominio de cristalina conservado. De forma específica, 5-coleston-3 β ,25-diol se une a un surco a través de la interfase dimerica cryAB y hace contacto con los restos cerca de R120 y D109.

Los resultados anteriores apoyan un modelo en el que el esteroil estabiliza la sHSP y reduce la formación de amiloide.

Ejemplo 4

Este Ejemplo demuestra que los compuestos que se identifican en el presente documento revierten el fenotipo de catarata *in vivo*.

El ratón con introducción génica de cryAB R120G es un modelo clínicamente aceptable de catarata asociada a la edad y hereditaria. El modelo de animal desarrolla varias cataratas en 20 semanas (Andley y col., *PLoS One* 6, e17671 (2011)). Los ojos extirpados de estos ratones se trataron con 5-colesten-3b,25-diol (100 μ M) o un control salino. El tratamiento con 5-colesten-3b,25-diol redujo significativamente la agregación de cryAB y mejoró la solubilidad de cryAB.

A continuación se formuló 5-colesten-3b,25-diol en una solución de ciclodextrina salina (ciclodextrano 5 mM; 5-colesten-3b,25-diol 5 mM) y se suministró mediante gotero ocular tres veces a la semana durante dos semanas a animales vivos (n = 15). Se determinaron la solubilidad de cryAB y la transparencia del cristalino mediante medición de iluminación de lente de ranura y mediante cromatografía de permeación en gel/dispersión de luz de homogenatos de cristalino. Este tratamiento mejoró significativamente la solubilidad de cryAB, mejoró la transparencia del cristalino y rescató los fenotipos de catarata en 10/15 ratones con introducción génica de cryAB R120G tratados. De ese modo, 5-colesten-3b,25-diol, y más generalmente, un compuesto de fórmula I, es un compuesto terapéutico prometedor para el tratamiento de catarata. Más ampliamente, estos estudios sugieren que se pueden usar campañas de HTS basadas en DSF para identificar chaperonas farmacológicas para no enzimas, tales como cryAB.

Ejemplo 5

Este Ejemplo demuestra que los compuestos que se identifican en el presente documento aumentan los niveles de α -cristalina soluble en el ojo.

Se suministró 5-colesten-3b,25-diol formulado en una solución de ciclodextrina salina (ciclodextrano 5 mM; 5-colesten-3b,25-diol 5 mM) mediante gotero ocular tres veces a la semana durante dos semanas a ratones vivos (n = 15). Se realizó un análisis de filtración de gel de solubilidad de α -cristalina mediante el procesamiento de las muestras como se ha descrito anteriormente por Andley y col. (*PLoS ONE*, 6:3, 1-13 (2011)). En resumen, se determinó el grado de agregación de α -cristalina usando cromatografía de permeación en gel (GPC) con mediciones de dispersión de luz e índice de refracción (RI). Todos los datos se analizaron usando SAS versión 9.3 (SAS Institute; Cary, NC). Para controlar las diferencias en la sensibilidad del ensayo entre los animales, el área bajo la curva para la α -cristalina en el ojo tratado con fármaco se comparó con el área bajo la curva generada a partir del ojo compañero sin tratar y se expresó como diferencia de "porcentaje" en área usando el ojo sin tratar como denominador. La diferencia de porcentaje entre los ojos tratados y sin tratar se comparó usando el ensayo de rango de signo de Wilcoxon para la hipótesis nula de ninguna diferencia. Se calculó la asociación entre edad y diferencia de porcentaje usando el coeficiente de correlación de rango de Spearman. Se usaron modelos estadísticos no paramétricos para proteger de desviaciones de la normalidad.

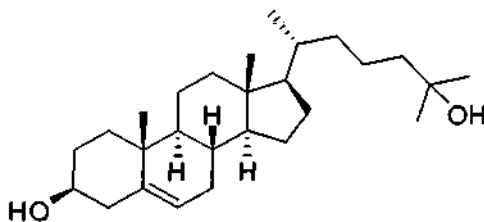
Se descubrió que el área bajo la curva de α -cristalina era estadísticamente significativamente mayor en los ojos tratados con fármaco frente a los ojos sin tratar compañeros (n = 17, diferencia media de porcentaje = 381,2 + 974,6, mediana = 63,3, valor p de rango de signo de Wilcoxon = 0,001). Los ratones de mayor edad demostraron un mayor aumento de porcentaje en α -cristalina en los ojos tratados con respecto a los ojos sin tratar (correlación de rango de Spearman = 0,44, p = 0,075). Los datos de la Tabla 1 muestran un aumento considerable en la diferencia de porcentaje mediana cuando la edad es mayor de 200 días.

		Edad (días)						Todos
		66	79	184	192	200	266	
Diferencia porcentual en el área entre los ojos sin tratar y tratados	N	3	1	2	3	4	4	17
	Media	177,2	98,1	61,4	22,7	38,7	1376,3	381,2
	Desviación típica	347,9		2,7	68,4	25,9	1799,8	974,6
	Mediana	-20,2	98,1	61,4	55,8	31,8	679,0	63,3

Los datos revelaron que un compuesto de fórmula I, 5-colesten-3b,25-diol, aumentó significativamente la solubilidad de α -cristalina *in vivo*, en particular en sujetos de edad avanzada, fijándose de ese modo como diana de un mecanismo subyacente de formación de catarata.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto representado por la fórmula:



- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de catarata en un individuo con necesidad del mismo.
2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición se formula para su uso por vía tópica, subconjuntiva, retrobulbar, periocular, subretiniana, supracoroidal, o intraocular.
- 10 3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la catarata es una catarata relacionada con la edad, una catarata diabética, una forma hereditaria de catarata de inicio temprano, una catarata asociada a cirugía, una catarata que resulta de exposición a radiación, una catarata que resulta de una enfermedad genética, una catarata que resulta de una infección, o una catarata que resulta de medicación.
4. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la catarata es una catarata relacionada con la edad, una catarata diabética o una forma hereditaria de catarata de inicio temprano.
- 15 5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en el que el individuo tiene una forma hereditaria de catarata de inicio temprano y tiene una mutación R120G o una mutación D109H en cryAB.
6. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la composición comprende un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable.
- 20 7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable es una ciclodextrina.
8. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la ciclodextrina es (2-hidroxipropil)- β -ciclodextrina.
9. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que la composición inhibe la agregación de α -cristalina.
- 25 10. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la composición reduce la agregación de proteína α -cristalina en al menos un 5 % en un ojo del individuo.
11. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la catarata a tratar se detecta mediante ensayo de agudeza visual.
- 30 12. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que se mejora la transparencia del cristalino.
13. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la catarata se detecta mediante ensayo de contraste.