

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 959 111**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/225</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/12</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/4439</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/16</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/70</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/19</b>	(2006.01)
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/216</b>	(2006.01)
<b>A61P 17/06</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/26</b>	(2006.01)
<b>A61P 1/04</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/385</b>	(2006.01)
<b>A61P 17/14</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/47</b>	(2006.01)
<b>A61P 5/48</b>	(2006.01)		
<b>A61P 21/04</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/05</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2012** **PCT/EP2012/074915**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013** **WO13092269**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2012** **E 12801539 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2023** **EP 2793876**

54 Título: **Composiciones farmaceuticas que comprenden glitazonas y activadores de Nrf2**

30 Prioridad:

**19.12.2011 EP 11194292**  
**21.06.2012 EP 12004652**  
**25.06.2012 US 201261663761 P**  
**18.10.2012 US 201213654632**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.02.2024**

73 Titular/es:

**KAHRS, BJOERN COLIN (100.0%)**  
**Via Costa di Mezzo 54**  
**6614 Brissago, CH**

72 Inventor/es:

**KAHRS, BJOERN COLIN**

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 2 959 111 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

Composiciones farmacéuticas que comprenden glitazonas y activadores de Nrf2

## CAMPO DE LA INVENCION

Se describen en la presente composiciones farmacéuticas que comprenden agonistas de PPAR y activadores de Nrf2 (cada uno de ellos mencionado en forma individual como "agente" y juntos como "agentes") y procedimientos para usar combinaciones de agonistas de PPAR y activadores de Nrf2 para tratar enfermedades como, por ejemplo, esclerosis múltiple. En particular, la invención está definida en las reivindicaciones

Los receptores activados por el proliferador de peroxima (PPAR) activan la transcripción mediante la unión a elementos de secuencias de ADN, conocidas como elementos de respuesta del proliferador de peroxisoma (PPRE), en forma de un heterodímero con receptores retinoides X (conocidos como RXRs). Se han identificado y descrito tres subtipos de PPARs humanos: PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  (PPAR gamma) y PPAR $\delta$  (o NUC1). El PPAR $\alpha$  se expresa principalmente en el hígado, mientras que el PPAR $\delta$  es ubicuo. De los tres subtipos, el PPAR $\gamma$  es el que se ha estudiado con mayor profundidad. Véase, por ejemplo "Differential Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Subtypes During the Differentiation of Human Keratinocytes" Michel Rivier et al., J. Invest. Dermatol., 111, 1998, páginas 1116-1121, en el que se menciona una gran cantidad de referencias bibliográficas relacionadas con los receptores de tipo PPAR. Se puede hacer mención también del informe titulado "The PPARs: From orphan receptors to Drug Discovery" de Timothy M. Willson, Peter J. Brown, Daniel D. Sternbach y Brad R. Henke, J. Med. Chem., 2000, Vol. 43, páginas 527-550. Se sugirió que el PPAR $\gamma$  desempeña una función esencial en la regulación de la diferenciación de los adipositos, en el que tiene una expresión considerable. También, tiene una función esencial en la homeostasis lípida sistémica.

Se informó que la clase de compuestos tiazolidindiona (el grupo de las denominadas glitazonas) que incluyen rosiglitazona, maleato de rosiglitazona, pioglitazona, clorhidrato de pioglitazona, troglitazona y ciglitazona y/o sus formas de sales son activadores potentes y selectivos de PPAR-gamma (denominado agonistas de PPAR gamma) y se unen directamente al receptor de PPAR-gamma (J. M. Lehmann et al., J. Biol. Chem. 12953-12956, 270 (1995)), lo cual brinda la prueba de que el PPAR-gamma es un objetivo posible para las acciones terapéuticas de las tiazolidindionas. Una forma de sal de glitazona se divulga por ejemplo en el documento WO 2002/020517. Desde esta observación, se ha demostrado que la activación del receptor de la hormona nuclear posee efectos metabólicos pleiotrópicos y no hipoglucémicos. El uso clínico de los agentes en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (o diabetes mellitus no insulino dependientes (NIDDM)) se asocia con la sensibilización de los efectos de la insulina reductores de la glucosa así como también la potenciación de otras acciones biológicas de la insulina en los tejidos objetivo. Cuando se utiliza como monoterapia, existen informes de retención de fluidos en expansión de volumen, y, en algunos pacientes, edema clínico. La incidencia del edema aumenta cuando ambos agentes se utilizan en combinación con la insulina (Nesto R. W. et al, 2003, Circulation, 108, 2941-2948). Sin embargo, los mecanismos comprendidos en estos efectos no se han descrito bien pero la naturaleza de la presentación sugiere una respuesta fisiológica integrada que incluye un efecto sobre el equilibrio entre la sal y agua renales. Los receptores de PPAR gamma se hallaron en el conducto recolector renal (Guan Y. et al; 2001, Kidney Int. 60, 14-30) y, por ende, los agonistas de PPAR gamma podrían estar implicados directamente en el metabolismo tubular renal o podrían tener efectos secundarios sobre la homeostasis de sal y agua. El agonista de PPAR gamma pioglitazona se sugirió como tratamiento para la psoriasis en, por ejemplo, British Journal of Dermatology (Diario británico de dermatología) 2005 152, páginas 176-198.

El documento WO 2010/039529 divulga un procedimiento para tratar una enfermedad inflamatoria en un paciente que comprende administrar conjuntamente a dicho paciente que lo necesita un primer agente seleccionado entre un agonista de PPAR, un agonista de LXR, un agonista de RAR, un agonista de HNF-4 o un compuesto activador de sirtuina y un segundo agente seleccionado entre ciertos compuestos insaturados, un compuesto de lipoxina, un compuesto de oxilipina. Entre las diversas enfermedades inflamatorias se menciona la esclerosis múltiple. Kaiser C., et al., Journal of Neuroimmunology 211, 124 - 130 (2009) informan sobre una prueba piloto de pioglitazona como complemento en pacientes con esclerosis múltiple remitente recurrente.

El factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide-2 o el factor relacionado con el factor nuclear E2p45 (Nrf2) es un factor de la transcripción de cierre de leucina básico de casquete y cuello, regula un programa transcripcional que mantiene la homeostasis redox celular y protege a las células contra un insulto oxidante (Rangasamy T, et al., J Clin Invest 114, 1248 (2004); Thimmulappa R K, et al. Cancer Res 62, 5196 (2002); So H S, et al. Cell Death Differ (2006)). El NRF2 activa la transcripción de sus genes objetivo a través de la unión específica al elemento de respuesta antioxidante (ARE) hallada en esos promotores de genes. El programa transcripcional regulada por NRF2 incluye un amplio espectro de genes, que incluyen antioxidantes, como, por ejemplo, la subunidad del modificador  $\gamma$ -glutamil cisteína sintetasa (GCLm), subunidad catalítica de  $\gamma$ -glutamil cisteína sintetasa (GCLc), heme oxigenasa-1, superóxido dismutasa, glutathione reductasa (GSR), glutathione peroxidasa, tioredoxin, tioredoxin reductasa, peroxiredoxinas (PRDX), transportador de la cisteína/glutamato (SLC7A11) (7, 8)], enzimas de desintoxicación de fase II [NADP(H) quinona oxidoreductasa 1 (NQO1), GST, UDP-glucuronosiltransferasa (Rangasamy T, et al. J Clin Invest 114: 1248 (2004); Thimmulappa R K, et al. Cancer Res 62: 5196 (2002)), y varias bombas de descarga de fármacos dependientes de ATP, con inclusión de MRP1, MRP2 (Hayashi A, et al. Biochem Biophys Res Commun 310: 824 (2003)); Vollrath V, et

al. *Biochem J* (2006)); Nguyen T, et al. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43: 233 (2003)).

Interenlazado con Nrf2 está KEAP1, que es un ancla citoplásmica de Nrf2 que también funciona como proteína adaptadora de sustrato para un complejo de ubiquitina ligasa E3 dependiente de Cul3 para mantener niveles de estado estable de transcripción dependiente de NRF2 y NRF2 (Kobayashi et al., *Mol Cell Biol* 24: 7130 (2004); Zhang D, et al. *Mol Cell Biol* 24: 10491 (2004)). El gen Keap1 se encuentra ubicado en el locus cromosómico humano 19p13.2. El polipéptido de KEAP1 tiene tres dominios principales: (1) un complejo amplio de N-terminal, Tramtrack, y el dominio Bric-a-brac (BTB); (2) una región interviniente central (IVR); y (3) una serie de seis repeticiones de Kelch de C-terminal (Adams J, et al. *Trends Cell Biol* 10:17 (2000)). Las repeticiones de Kelch de KEAP1 se unen al dominio Neh2 de Nrf2, mientras que los dominios IVR y BTB se requieren para la regulación sensible a redox de Nrf2 a través de una serie de cisteínas reactivas presentes en toda esta región (Wakabayashi N, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 2040 (2004)). KEAP1 suprime constitutivamente la actividad de Nrf2 en ausencia de esfuerzo o estrés. Los oxidantes, xenobióticos y electrófilos obstaculizan la degradación proteosómica mediada por KEAP1 de Nrf2, que resulta en una mayor acumulación nuclear y, a su vez, en la inducción transcripcional de genes objetivo que aseguran la supervivencia celular (Wakabayashi N, et al. *Nat Genet.* 35: 238 (2003)). Se demostró que la protimosina  $\alpha$ , una nueva pareja de unión de KEAP1, es un disociador intranuclear del complejo NRF2-KEAP1 y puede regular en forma ascendente la expresión de los genes objetivo Nrf2 (Karapetian R N, et al. *Mol Cell Biol* 25: 1089 (2005)). Se han sugerido ciertas interacciones entre Nrf2 y PPAR gamma, por ejemplo, *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182:170–182.

Los activadores de Nrf2 de acuerdo con la presente invención son agentes que, luego de la administración, resultan en una translocación nuclear estimulada y/o aumentada de la proteína Nrf2 y causan los posteriores aumentos en productos génicos que desintoxican y eliminan metabolitos citotóxicos. Los activadores de Nrf2 de acuerdo con la presente invención pueden actuar directamente sobre Nrf2, KEAP1, el complejo NRF2-KEAP1 y/o de otro modo. Los activadores de Nrf2 de la presente invención pueden comprender un aceptor de adición de Michael, uno o más ésteres de ácido fumárico, es decir, mono- y/o diésteres de ácido fumárico que se seleccionan preferentemente del grupo de fumarato de hidrógeno de monoalquilo y fumarato de dialquilo, como, por ejemplo, fumarato de hidrógeno de monometilo, fumarato de dimetilo, fumarato de hidrógeno de monoetilo, y fumarato de dietilo.

Los activadores de Nrf2 muy preferidos para su uso en combinación con agonistas de PPAR gamma de acuerdo con la presente invención son ésteres de ácido fumárico.

Los ésteres de ácido fumárico están aprobados en Alemania para el tratamiento de la psoriasis, se están evaluando en los Estados Unidos para el tratamiento de la psoriasis y la esclerosis múltiple, y se han propuesto para su uso en el tratamiento de un amplio intervalo de enfermedades y afecciones inmunológicas, autoinmunes, e inflamatorias. Se han propuesto a los FAE y otros derivados de ácido fumárico para su uso en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades y afecciones que comprenden procesos inmunológicos, autoinmunes y/o inflamatorios, entre los que se incluye la psoriasis (Joshi y Strebel, WO 1999/49858; US 6,277,882; Mrowietz y Asadullah, *Trends Mol Med* 2005, 11(1), 43-48; y Yazdi y Mrowietz, *Clinics Dermatology* 2008, 26, 522-526); asma y enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (Joshi et al., WO 2005/023241 y US 2007/0027076); insuficiencia cardíaca que incluye la insuficiencia del ventrículo izquierdo, infarto de miocardio y angina pectoris (Joshi et al., WO 2005/023241; Joshi et al., US 2007/0027076); enfermedades mitocondriales y neurodegenerativas como, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa y encefalomiopatía mitocondrial (Joshi y Strebel, WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 6,509,376, US 6,858,750, y US 7,157,423); trasplante (Joshi y Strebel, WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 6,359,003, US 6,509,376, y US 7,157,423; y Lehmann et al, *Arch Dermatol Res* 2002, 294, 399-404); enfermedades autoinmunes (Joshi y Strebel, WO 2002/055063, US 6,509,376, US 7,157,423, y US 2006/0205659) que incluyen a la esclerosis múltiple (MS) (Joshi y Strebel, WO 1998/52549 y US 6,436,992; Went y Lieberburg, US 2008/0089896; Schimrigk et al., *Eur J Neurology* 2006, 13, 604-610; y Schilling et al., *Clin Experimental Immunology* 2006, 145, 101-107); lesión por isquemia y reperfusión (Joshi et al., US 2007/0027076); daño del genoma inducido por AGE (Heidland, WO 2005/027899); enfermedades inflamatorias intestinales como, por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa; artritis; y otros (Nilsson et al., WO 2006/037342 y Nilsson y Muller, WO 2007/042034). Todas estas indicaciones y enfermedades se pueden tratar o prevenir con el tratamiento de combinación de la presente invención.

El Fumaderm®, un comprimido recubierto entérico que contiene una mezcla de sal de fumarato de monoetilo y fumarato de dimetilo, que se hidroliza rápidamente a fumarato de monometilo, fue aprobado en Alemania en el año 1994 para el tratamiento de la. El Fumaderm® es TID dosificado con 1-2 gramos/día administrados para el tratamiento de la psoriasis.

Biogen Idec Inc. está evaluando actualmente el fumarato de dimetilo bajo el nombre del producto BG-12 en el tratamiento de la esclerosis múltiple de relapso-remisión. El fármaco se encuentra bajo revisión con los reglamentadores de los Estados Unidos y Europa.

Los derivados de ácido fumárico (Joshi y Strebel, WO 2002/055063, US 2006/0205659, y US 7,157,423 (compuestos de amida y conjugados de proteína-fumarato); Joshi et al., WO 2002/055066 y Joshi y Strebel, US 6,355,676 (mono y dialquilésteres); Joshi y Strebel, WO 2003/087174 (compuestos carbocíclicos y oxocarbocíclicos); Joshi et al., WO 2006/122652 (tiosuccinatos); Joshi et al., US 2008/0233185 (dialquil y diarilésteres) y sales (Nilsson et al., US 2008/0004344) fueron desarrollados en un esfuerzo por superar las deficiencias de la terapia actual con ésteres de

ácido fumárico. Las composiciones farmacéuticas de liberación controlada que comprenden ésteres de ácido fumárico se encuentran descritas por Nilsson y Müller, WO 2007/042034. Los profármacos se encuentran descritos por Nielsen y Bundgaard, J Pharm Sci 1988, 77(4), 285-298 y en WO2010/022177.

#### Descripción detallada

5 Con preferencia, el término "alquilo" incluye específicamente grupos que poseen cualquier grado o nivel de saturación, es decir, grupos que tienen enlaces de carbono-carbono exclusivamente únicos, grupos que poseen uno o más dobles  
10 enlaces de carbono-carbono, grupos que poseen uno o más triples enlaces de carbono-carbono, y grupos que poseen combinaciones de enlaces únicos, dobles y triples de carbono-carbono. Cuando se desea un nivel específico de saturación, se utilizan los términos alcanilo, alquenoilo, y alquinoilo. En ciertas realizaciones, un grupo alquilo puede  
15 tener de 1 a 20 átomos de carbono (C1-20) en ciertas realizaciones, de 1 a 10 átomos de carbono (C1-10), en ciertas realizaciones de 1 a 8 átomos de carbono (C1-8), en ciertas realizaciones, de 1 a 6 átomos de carbono (C1-6), en ciertas realizaciones de 1 a 4 átomos de carbono (C1-4), y en ciertas realizaciones, de 1 a 3 átomos de carbono (C1-3). El término "alcoxi" se refiere a un grupo O-alquilo, en el que alquilo posee el significado indicado anteriormente. El término "perfluoralquilo" se refiere a un grupo alquilo en el que todos los átomos de hidrógeno se reemplazaron por flúor.

"Tratar" o "tratamiento" respecto de cualquier enfermedad se refiere a revertir, aliviar, detener, o mejorar una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, reducir el riesgo de adquirir una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, inhibir el avance de una enfermedad o al menos uno de los  
20 síntomas clínicos de la enfermedad o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad. "Tratar" o "tratamiento" también se refiere a la inhibición de la enfermedad, ya sea en forma física (por ejemplo, la estabilización de un síntoma discernible), fisiológica (por ejemplo, la estabilización de un parámetro físico), o ambas, y a la inhibición de al menos un parámetro físico que puede ser discernible o no discernible para el paciente. En ciertas realizaciones, "tratar" o "tratamiento" se refiere al retraso del inicio de la enfermedad o de al menos uno o más de sus síntomas en un paciente que puede estar expuesto a una enfermedad o ser propenso a una enfermedad aunque el paciente no experimente o muestre síntomas de la enfermedad.  
25

"Cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de un compuesto que, al administrarse a un individuo para tratar una enfermedad, o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, es suficiente para afectar ese tratamiento de la enfermedad o su síntoma. La "cantidad terapéuticamente efectiva" puede variar según, por ejemplo, el compuesto, la enfermedad y/o los síntomas de la enfermedad, la gravedad de la enfermedad y/o los  
30 síntomas de la enfermedad o el trastorno, la edad, el peso y/o la salud del paciente que se ha de tratar, y el criterio del médico interviniente. Una cantidad adecuada en una instancia dada puede ser calculada por los expertos en la técnica o por aquellos que sean capaces de determinarla por experimentación de rutina.

"Dosis terapéuticamente efectiva" se refiere a una dosis que provee un tratamiento efectivo de una enfermedad o un trastorno en un paciente. Una dosis terapéuticamente efectiva puede variar de compuesto a compuesto, y de paciente a paciente y puede depender de factores como, por ejemplo, el estado del paciente y la vía de administración. Una  
35 dosis terapéuticamente efectiva se puede determinar de acuerdo con procedimientos farmacológicos de rutina conocidos por los expertos en la técnica.

En toda la memoria descriptiva, el término "activador de Nrf2" se refiere, preferentemente, a un activador de Nrf2 que, si se produjere en forma natural, se separa sustancialmente de otros componentes y otras moléculas que acompañan naturalmente al activador de Nrf2 respectivo. El término abarca un activador de Nrf2, que se retiró de su ambiente de  
40 producción natural o de su estado natural a través de pasos de purificación que separan a otras moléculas asociadas naturalmente con él, por ejemplo, mediante procedimientos convencionales, como, por ejemplo, cromatografía, cristalización y destilación. El término "activador de Nrf2" aún permite, preferentemente, que el activador de Nrf2 sea mezclado con diversas cantidades de agua, como, por ejemplo, hasta aproximadamente 20% en peso. El término "activador de Nrf2" excluye, preferentemente, a aquellos activadores de Nrf2 que aún se encuentran en su estado natural, por ejemplo, que aún se encuentran contenidos en su fuente de origen o en partes de su fuente de origen, como, por ejemplo, una planta, independientemente de si esta fuente de origen se ha secado o no. Más aún, el término "activador de Nrf2" se refiere, preferentemente, a una molécula natural o preparada sintéticamente, que posee una  
45 pureza superior a 70% en peso, con preferencia superior a aproximadamente 90% en peso, como, por ejemplo, aproximadamente 95% en peso, aproximadamente 97% en peso o aproximadamente 99% en peso antes de formularse en una composición farmacéutica, si así se deseara. En el caso de que el activador de Nrf2 se produzca naturalmente, por ejemplo, como un producto natural, es, con preferencia, un activador de Nrf2 aislado, es decir, no en forma de, por ejemplo, una preparación herbal.  
50

En el caso de que el agonista de PPAR gamma se produzca en forma natural, por ejemplo, como producto natural, es, con preferencia, un agonista de gamma PPAR aislado, es decir, no en forma de, por ejemplo, una preparación herbal.  
55

Se hará referencia entonces en forma detallada a ciertas realizaciones de los compuestos, las composiciones y los procedimientos. Las realizaciones divulgadas no pretenden ser limitantes de las reivindicaciones que definen la invención.

De acuerdo con la presente invención, se obtienen resultados de tratamiento considerablemente mejorados en el tratamiento de enfermedades autoinmunes e/o inflamatorias, cuando un agonista de PPAR y, preferentemente, un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 se utilizan en el tratamiento de la enfermedad en combinación en comparación con el tratamiento con un agonista de PPAR gamma o un activador de Nrf2 solo. La coadministración de un agonista de PPAR gamma y de un activador de Nrf2 o la administración de una combinación de dosis fija de un agonista de PPAR gamma y de un activador de Nrf2 resulta en un efecto terapéutico mejorado, que puede ser un efecto más que aditivo, en comparación con la administración de un agonista PPAR gamma o de activadores de Nrf2, respectivamente, administrado como monoterapia.

En particular, se halló que los resultados terapéuticos beneficiosos en las enfermedades inflamatorias y/o autoinmunes que resultan del uso de compuestos como, por ejemplo, dexametasona, que poseen ambos efectos activadores de Nrf2 y agonistas de PPAR gamma, se pueden combinar o incluso superar mediante el tratamiento de combinación de la presente invención, donde se emplean al menos dos compuestos individuales y diferentes que poseen cada uno cualquiera de los efectos agonistas de PPAR gamma o activadores de Nrf2. Por lo tanto, un tratamiento de combinación que comprende al menos un agonista de PPAR gamma, que puede no tener significancia o bien puede tener sólo un efecto modulador o activador menor sobre Nrf2, y al menos un Nrf2, que puede no tener significancia o bien puede tener solamente un efecto modular o activador menor sobre PPAR gamma, resulta en efectos terapéuticos mejorados o sinérgicos, en comparación con la administración del agonista de PPAR gamma o el activador de Nrf2, respectivamente, administrado como monoterapia. El efecto sinérgico es con frecuencia más pronunciado con las combinaciones, en donde los agentes empleados son, predominantemente, los agonistas de Agonista de PPAR gammas o los activadores de Nrf2, cada uno de los cuales no presenta una actividad significativa sobre el objetivo respectivo del otro. No obstante, aún en aquellos casos en los que uno o ambos agentes presentan efectos agonistas de PPAR gamma y activadores de Nrf2 significativos al mismo tiempo, como en el caso de la dexametasona y la 15-desoxi-delta(12,14)-prostaglandina J(2) (15d-PGJ(2)), el tratamiento de combinación de acuerdo con la presente invención puede conducir a mejores resultados en el tratamiento en comparación con la monoterapia. Un compuesto que posee efectos duales sobre los objetivos PPAR gamma y Nrf2 probablemente no muestre un efecto idealmente distribuido sobre ambos objetivos para su uso terapéutico. Mediante la aplicación de la presente invención, cada objetivo se puede abordar individualmente y activarse con concentraciones adecuadas de los agentes respectivos.

Por ende, se prefieren las realizaciones en las que al menos un agente no sea agonista de PPAR gamma y activador de Nrf2 al mismo tiempo.

Se prefieren los tratamientos de combinación y las combinaciones de dosis fijas de acuerdo con la presente invención, que comprenden al menos dos agentes diferentes que poseen efectos agonistas de PPAR gamma o activadores de Nrf2 a la concentración usada en la combinación.

La presente invención se refiere a compuestos para su uso en tratamientos de combinación, composiciones que contienen la combinación inventiva de agentes y combinaciones de dosis fijas relacionadas, en el que el agonista de PPAR, como, por ejemplo, el agonista de PPAR gamma y el activador de Nrf2 son compuestos diferentes que poseen, preferentemente, una estructura química diferente, por ejemplo, una diferencia de átomos de carbono de al menos 3 átomos de carbono, con preferencia al menos 5 o al menos 10 átomos de carbono, y no pertenecen a la misma clase química. A lo largo de la presente descripción, el uso del singular incluye también el plural, si no se indicase otra cosa.

Los agonistas de PPAR preferidos son compuestos que poseen un efecto agonista de PPAR gamma sin activar significativamente Nrf2. Ellos son, con preferencia, compuestos que no poseen capacidad para formar enlaces covalentes con grupos tiol orgánicos bajo condiciones fisiológicas, como, por ejemplo, con glutathione. Por lo tanto, los agonistas de PPAR gamma preferidos son compuestos que, contrariamente a, por ejemplo, 15-desoxi-delta(12,14)-prostaglandina J(2) (15d-PGJ(2)), no se pueden unir covalentemente a través de, por ejemplo, una reacción de adición de Michael, al receptor de PPA. Los agonistas de PPAR de mayor preferencia son las glitazonas.

Los agonistas de PPAR son activadores de PPAR (por ejemplo, los agonistas de PPAR son activadores de PPAR gamma). La definición de "agonista de PPAR" y "agonista de PPAR gamma" de acuerdo con la presente invención incluye, preferentemente, a aquellos agonistas, es decir compuestos, que se unen directamente al receptor PPA y poseen un efecto agonista, es decir activador, así como también los denominados agonistas de PPAR fisiológicos y agonistas de PPAR gamma fisiológicos, que no necesariamente se unen al receptor PPAR, pero resultan en la activación de PPAR a través de otras vías, como, por ejemplo, mediante el aumento de la concentración del agonista de PPAR gamma endógeno 15-desoxi-Delta(12,14)-prostaglandina J(2) (15d-PGJ(2)).

Se conoce una gran cantidad de agonistas de PPAR naturales y sintéticos (por ejemplo, véanse Michalik et al. (2006) Pharmacological Reviews 58:726-725; Gilde et al. (2003) Circulation Research 92(5):5 18-524; Peraza et al. (2005) Toxicological Sciences 90(2):269-295; y Desvergne & Wahli (1999) Endocrine Reviews 20(5):649-688). Algunos de estos agonistas conocidos son específicos para un único isotipo de PPAR, mientras que otros apuntan a múltiples subtipos de PPAR. Se prefieren los agonistas de PPAR, si el agonista de PPAR activa el PPAR gamma o el PPAR gamma y el PPAR alfa simultáneamente, más fuerte que las otras isoformas. El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. Las referencias a procedimientos de tratamiento en el sumario y la descripción detallada de la invención en esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un procedimiento para el tratamiento del cuerpo humano (o

animal) mediante terapia.

El agonista de PPAR se selecciona del grupo que consiste en agonistas de PPAR gamma, que consiste en glitazonas.

En incluso otras realizaciones, la glitazona se puede seleccionar del grupo que consiste en troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, ciglitazona, englitazona, darglitazona, netoglitazona, isaglitazona, MC-555, balaglitazona, rivoglitazona, y los descritos en US5002953, US4687777 y US5965584. Si bien se prefieren la pioglitazona y la rosiglitazona, los de mayor preferencia aún son el clorhidrato de pioglitazona y el maleato de rosiglitazona.

Los compuestos activadores de Nrf2 se pueden clasificar en base a sus estructuras químicas: difenoles, aceptores de la reacción de Michael, isotiocianatos, tiocarbamatos, arsenicales trivalentes, 1,2-ditio-3-tionas, hidroperóxidos, dimercaptanos vecinales, metales pesados, y polienos. Más aún, los activadores de Nrf2 (i) son todos químicamente reactivos; (ii) casi todos son electrófilos; (iii) la mayoría de ellos son sustratos para glutatión transferasas; y (iv) todos pueden modificar los grupos sulfhidrilo mediante alquilación, oxidación, o reducción (PNAS Febrero 17, 2004 vol. 101 nro. 7 2040-2045, Mol. Cell. Biol. 2009, 29(2):493). La actividad de los compuestos se puede identificar mediante procedimientos conocidos.

Los activadores de Nrf2 preferidos son compuestos sin un efecto agonista significativo de PPAR gamma. Ellos son, preferentemente, compuestos que se pueden unir o no se pueden unir covalentemente al receptor de PPA, pero no pueden cambiar la conformación del PPAR y, con preferencia, del receptor de PPA gamma, hasta un grado que resultaría en una activación del receptor de PPA. De acuerdo con la presente invención, estos activadores preferidos de Nrf2 son pequeños y de bajo peso molecular. Preferentemente, estos compuestos carecen de elementos estructurales para unirse al receptor de PPA de manera no covalente con el resultado de un cambio de la conformación y activación del receptor de PPA. En una realización preferida, los activadores de Nrf2 pueden ser capaces de unirse covalentemente al receptor de PPA, por ejemplo, por medio de una reacción de Michael con un grupo tiol del receptor de PPA, sin resultar en un cambio de la conformación del receptor de PPA. Sin embargo, debido a su tamaño limitado, estos activadores de Nrf2 preferidos pueden no prevenir que los agonistas de PPAR y, en particular, agonistas de PPAR gamma, especialmente glitazonas como, por ejemplo, pioglitazona o rosiglitazona, se unan en forma no covalente al receptor de PPA con el resultado de un cambio de conformación.

En un ejemplo muy preferido, la unión covalente de un activador de Nrf2 como, por ejemplo, un fumarato de hidrógeno de monometilo o fumarato de dimetilo y la unión no covalente de un agonista de PPAR gamma como, por ejemplo, una glitazona, como pioglitazona o rosiglitazona, conduce a resultados terapéuticos sinérgicos y considerablemente mejorados.

En los casos en los que se emplean compuestos de la clase química de quinonas (no parte de la invención) como activadores de Nrf2, las respectivas hidroquinonas se pueden usar alternativamente. Sin embargo, se prefiere la respectiva forma oxidada, es decir, la respectiva quinona. La actividad de Nrf2 se puede determinar de acuerdo con, por ejemplo, JALA 2008; 13: 243-248.

Los activadores de Nrf2 muy preferidos de la divulgación son capaces de provocar o inducir una translocación nuclear estimulada y/o aumentada de la proteína de Nrf2 y:

a) se seleccionan del grupo de aceptores de la reacción de Michael, fenoles, difenoles, calconas, isotiocianatos, tiocarbamatos, quinonas, naftoquinonas y 1,2-ditio-3-tionas; y

b) contienen menos de 35 átomos de carbono; y/o

c) posee un peso molecular inferior a 600 g/mol; y/o

d) o bien no contienen ninguno o contienen no más de uno o dos anillos carbocíclicos o heterocíclicos fusionados o monocíclicos de 5 o 6 miembros que poseen 1, 2 o 3 átomos de anillo seleccionados de N, O o S.

En estos activadores de Nrf2 preferidos, uno o más, con preferencia hasta siete átomos de H, se pueden sustituir, con preferencia, con alquilo o perfluoralquilo lineal o ramificado, como, por ejemplo, metilo, etilo, trifluormetilo, halógeno, como, por ejemplo, Br, Cl, F o I, hidroxilo, alcoxi y perfluoralcoxi, como, por ejemplo, metoxi, etoxi, trifluormetoxi, ciano y nitro.

Las realizaciones más preferidas de estos activadores de Nrf2 no contienen ningún sistema de anillo o bien contienen solamente uno o dos anillos, que pueden ser anillos carbocíclicos y/o heterocíclicos. Los activadores de Nrf2 de mayor preferencia aún contienen menos de 30, con mayor preferencia menos de 25 y con mayor preferencia aún menos de 20, incluso menos de 15 o menos de 10 átomos de carbono y/o poseen un peso molecular inferior a 400 g/mol, con mayor preferencia inferior a 300 g/mol y, con mayor preferencia aún, inferior a 200 g/mol o inferior a 170 g/mol. Los activadores de Nrf2 más preferidos se unen covalentemente a la proteína Keap1, con preferencia por medio de un átomo de S de los aminoácidos de las proteínas.

Los aceptores de la reacción de Michael preferidos son cetonas, aldehídos, ésteres de ácidos carboxílicos y amidas de ácidos carboxílicos, todos los cuales son alfa, beta insaturados.

Los activadores de Nrf2 de mayor preferencia son los compuestos A a Z indicados a continuación, que incluyen sus tautómeros y estereoisómeros:



En los que los radicales individuales poseen el significado indicado a continuación:

R <sup>3</sup>	H, alquilo
R <sup>4</sup>	H, OH, alquilo, alcoxi
R <sup>5</sup>	H, OH, A, alcoxi

Hal es F, Cl, Br o I, preferentemente F o Cl.

- 5 A es, preferentemente, alquilo, que denota una cadena de carbono recta o ramificada que posee 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 átomos de carbono. "Alquilo" denota, preferentemente, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo o ter-butilo, además pentilo, 1-, 2- o 3-metilbutilo, 1,1-, 1,2- o 2,2-dimetilpropilo, 1-etilpropilo, hexilo, 1-, 2-, 3- o 4-metilpentilo, 1,1-, 1,2-, 1,3-, 2,2-, 2,3- o 3,3-dimetilbutilo, 1- o 2-etilbutilo, 1-etil-1-metilpropilo, 1-etil-2-metilpropilo, 1,1,2- o 1,2,2-trimetilpropilo. Alternativamente, "A" denota cicloalquilo que posee 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de carbono o alquilo lineal o ramificado que posee 2 a 12 átomos de C, en el que uno o más, con preferencia 1 a 7, átomos de H pueden estar reemplazados por Hal, alquilo, alcoxi, cicloalquilo, fenilo, p-, m- o- hidroxifenilo, p-, m- o- alcoxifenilo, N(R<sup>3</sup>)<sub>2</sub>, OH, CO<sub>2</sub>H, CF<sub>3</sub> y/o en el que uno o más, con preferencia 1 a 7 grupos CH<sub>2</sub> no adyacentes pueden estar reemplazados por -O-, -S-, -SO-, -NR<sup>3</sup>-, -CO-, -CO<sub>2</sub>-, -CH=CH-S- y/o -CH=CH-. "Cicloalquilo" denota, preferentemente, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo.
- 10
- 15 Alcoxi es, preferentemente, un grupo O-alquilo, en el que alquilo se define como se ha definido anteriormente. Con preferencia, "alcoxi" denota un grupo -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>, en el que n es 0, 1, 2, 3 o 4, con mayor preferencia metoxi o etoxi.

- 20 Perfluoralquilo denota, preferentemente, una cadena de alquilo recta o ramificada que posee 1 a 8 átomos de carbono, con preferencia 1 a 6 átomos de carbono, y en el que todos los átomos de hidrógeno se reemplazan por átomos de F, con preferencia, por ejemplo, trifluorometilo o pentafluoretilo.

Perfluoralcoxi es, con preferencia, un grupo O-perfluoralquilo, en el que "perfluoralquilo" se define como se ha definido anteriormente. Perfluoralcoxi preferentemente denota OCF<sub>3</sub>.

R<sup>3</sup> es, con preferencia, H o alquilo, preferentemente H, metilo o ter-butilo.

R<sup>4</sup> es, con preferencia, H, OH, alcoxi, como, por ejemplo, metoxi.

- 25 R<sup>5</sup> es, con preferencia, H o A.

Los activadores de Nrf2 preferidos de la invención se seleccionan de:

ésteres de ácido fumárico, es decir, mono- y/o diéster de ácido fumárico que, con preferencia, se selecciona del grupo de fumarato de monoalquilhidrógeno y fumarato de dialquilo, como, por ejemplo, fumarato de monometilhidrógeno, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilhidrógeno, y fumarato de dietilo.

- 30 En el contexto de la presente invención, los activadores de Nrf2 muy preferidos se seleccionan de:

ésteres de ácido fumárico, es decir, mono- u/o diéster de ácido fumárico que, con preferencia, se selecciona del grupo de fumarato de monoalquilhidrógeno y fumarato de dialquilo, tales como, fumarato de monometilhidrógeno, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilhidrógeno, y fumarato de dietilo, y los estereoisómeros o tautómeros de los agentes mencionados anteriormente. Los activadores de Nrf2 muy preferidos son los aceptores de la reacción de Michael, fumarato de dimetilo y fumarato de monometilhidrógeno. En otra realización, los activadores de Nrf2 muy preferidos se seleccionan de fumarato de monometilhidrógeno y fumarato de dimetilo así como los estereoisómeros, tautómeros y sales de los agentes antes mencionados.

- 40 En una incluso realización más preferida de la presente invención, el activador de Nrf2 se selecciona del grupo de ésteres de ácido fumárico así como así como los estereoisómeros, tautómeros y sales de los agentes antes mencionados. Estos activadores de Nrf2 preferidos antes mencionados tienen ninguna o ninguna actividad agonística significativa o ningún efecto significativo sobre PPAR gamma.

Es particularmente ventajoso que el uso del agonista de PPAR gamma y el activador de Nrf2 de acuerdo con la presente

invención puede permitir la dosis máxima de cada agente cuando se utiliza en monoterapia, lo cual resulta en un máximo efecto terapéutico. Se observa que no existe ningún aumento o bien que existe sólo un aumento muy limitado en los efectos secundarios adversos conocidos para el agonista de PPAR gamma individual o el activador de Nrf2. Puede ser beneficioso también reducir la dosis de uno o ambos agentes empleados en el tratamiento de combinación de la presente invención. Por ende, los efectos secundarios que se pueden observar en la monoterapia con los agentes se pueden evitar o reducir. A lo largo de toda la memoria descriptiva, el término "derivados farmacológicamente activos" denota, preferentemente, sales y ésteres, como, por ejemplo, alquilésteres que incluyen ésteres de metilo y etilo, de ácidos farmacológicamente activos y ésteres y éteres de ácidos alcanóicos de alcoholes farmacológicamente activos, como, por ejemplo, ésteres de ácido acético y metilésteres así como también amidas de ácido alcanóico de aminas farmacológicamente activas, como, por ejemplo, la respectiva amida de ácido acético.

El tratamiento de combinación de la presente invención se puede combinar, además, con los tratamientos y medicamentos que se utilizan generalmente en las diversas indicaciones como tratamiento estándar. En el tratamiento de la esclerosis múltiple, por ejemplo el tratamiento de combinación de la presente invención, se puede combinar, además, con interferón, como, por ejemplo, el interferón beta 1b o interferón beta 1a (Rebif, Avonex) o acetato de glatiramer (Copaxone), un modulador del receptor de esfingosina 1-fosfato, como, por ejemplo, Fingolimod (Gilenya) y/o metotrexato. El tratamiento de combinación de la presente invención se puede combinar, además, con ligandos específicos de RXR, como, por ejemplo, ácido 9-cis-retinoico (RA) a fin de obtener resultados aún mejores, particularmente en el tratamiento de la psoriasis.

La terapia de combinación de la presente invención, especialmente para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, se puede combinar además con agentes terapéuticos establecidos muy conocidos en la técnica para la enfermedad, como, por ejemplo, levodopa, generalmente combinados con un inhibidor de dopa descarboxilasa como, por ejemplo, carbidopa, benserazida o un inhibidor de COMT, como, por ejemplo, entacapona, tolcapona o nitecapona. Además, la terapia de combinación de la presente invención se puede combinar aún más con agonistas de dopamina, como, por ejemplo, bromocriptina, pergolida, pramipexol, ropinirol, piribedilo, cabergolina, apomorfina, lisurida o rotigotina e inhibidores de MAO-B como, por ejemplo, selegilina o rasagilina.

La terapia de combinación de acuerdo con la presente invención se puede administrar en forma simultánea o en un régimen secuencial, mencionado también como coadministración. Cuando se administra en forma secuencial, la combinación se puede administrar en dos o más administraciones. Incluso, es posible combinar cualquier agonista de PPAR gamma con un activador de Nrf2 en una forma de dosis unitaria para la administración simultánea o secuencial a un paciente.

En general, para las composiciones que contienen ésteres de ácido fumárico, se prefiere una administración de dos veces por día (BID) o tres veces por día (TID). Las dosis de los agentes individuales se ajustan en forma acorde.

La coadministración de un agonista de PPAR gamma con un activador de Nrf2 de acuerdo con la invención se refiere, generalmente y con preferencia, a la administración simultánea o secuencial de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2, de manera que las cantidades terapéuticamente efectivas del agonista de PPAR gamma y del activador de Nrf2 se hallen presentes al mismo tiempo en el cuerpo del paciente.

La coadministración incluye la administración simultánea y la administración de un agente de acuerdo con la invención antes o luego de la administración del otro agente, por ejemplo, la administración de ambos agentes de acuerdo con la invención dentro de segundos, minutos, u horas. En una realización, se administra el primer agente, y luego de un período de horas, por ejemplo, 0,25-12 horas, preferentemente 0,5 a 3 horas, con mayor preferencia 1 a 2 horas), sigue la administración del segundo agente.

La terapia de combinación y la coadministración de acuerdo con la invención proveen con frecuencia una "sinergia" y un "efecto sinérgico", es decir que el efecto terapéutico logrado cuando se usan juntos el agonista de PPAR gamma y el activador de Nrf2 es más que aditivo, es decir mayor que la suma de los efectos que resultan del uso de cada agente solo.

Una dosis adecuada de un agonista de PPAR y un activador de Nrf2 o una composición farmacéutica que comprende un agonista de PPAR y un activador de Nrf2 para su uso en la presente invención, se puede determinar de acuerdo con cualquiera de varios protocolos bien establecidos. Por ejemplo, los estudios sobre animales como, por ejemplo, los estudios en los que se utilizan ratones, ratas, perros y/o monos, se pueden utilizar para determinar una dosis adecuada de un compuesto farmacéutico. Los resultados de los estudios realizados sobre animales se pueden extrapolar a fin de determinar las dosis para su uso en otras especies como, por ejemplo, en el ser humano.

En general, un agonista de PPAR gamma preferido se administra en combinación con un activador de Nrf2 preferido de acuerdo con la invención, preferentemente en forma oral, en dosis diarias de 0,01 mg a 50 mg por kg de peso corporal, según la actividad y la seguridad del agonista de PPAR gamma respectivo. Si no se indicare de otro modo, las dosis indicadas precedentemente y a continuación reflejan la cantidad de base libre del agonista de PPAR gamma, aún si se utilizaren en forma del maleato u otra sal de adición de ácido.

El activador de Nrf2 preferido es fumarato de dialquilo tal como fumarato de dimetilo y fumarato de dietilo.



Los fumaratos de dialquilo que se utilizarán de acuerdo con la invención se preparan mediante procesos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, EP 0 312 697).

5 Preferentemente, los ingredientes activos, es decir, los agentes, se utilizan para preparar preparaciones orales en forma de comprimidos, microcomprimidos, pellas o granulados, opcionalmente en cápsulas o sobres. Se prefieren las preparaciones en forma de microcomprimidos o pellas, opcionalmente rellenos en cápsulas o sobres, y también son objeto de la invención. De acuerdo con una realización preferida, el tamaño o el diámetro medio, respectivamente, de las pellas o de los microcomprimidos, se halla en el intervalo de 300 a 2,000  $\mu\text{m}$ , especialmente en el intervalo de 500 o 1,000  $\mu\text{m}$ .

10 Las preparaciones orales pueden estar provistas de un recubrimiento entérico. Las cápsulas pueden ser cápsulas de gelatina blanda o dura.

Los fumaratos de dialquilo utilizados de acuerdo con la invención se pueden usar solos o como una mezcla de varios compuestos, opcionalmente en combinación con los vehículos y excipientes convencionales. Las cantidades que se utilizarán se seleccionan de manera que las preparaciones, como, por ejemplo, comprimidos, obtenidas contengan el ingrediente activo en una cantidad correspondiente a 10 a 300 mg de ácido fumárico por unidad de dosis.

15 Las preparaciones preferidas de acuerdo con la invención contienen una cantidad total de 10 a 300 mg de fumarato de dimetilo y/o fumarato de dietilo.

Se prefieren las combinaciones de dosis fijas de un agonista de PPAR con un activador de Nrf2. Se prefieren particularmente las combinaciones de dosis fijas de rosiglitazona con fumarato de dimetilo. Particularmente, se prefieren las combinaciones de dosis fijas de pioglitazona con fumarato de dimetilo.

20 En particular, la rosiglitazona, de preferencia, se administra de acuerdo con la invención en forma de su maleato en dosis diarias de 0,01 a 0,2 mg por kg de peso corporal, con mayor preferencia, en dosis diarias de 0,02 a 0,16 mg por kg de peso corporal y, con mayor preferencia, en dosis diarias de 0,025 mg a 0,14 mg por kg de peso corporal, como, por ejemplo, en dosis diarias de 0,03 mg, 0,06 mg o 0,12 mg por kg de peso corporal. Las dosis orales diarias de 2 mg, 4 mg y 8 mg de rosiglitazona por paciente se prefieren particularmente.

25 En particular, la pioglitazona, con preferencia, se administra de acuerdo con la invención en forma de su clorhidrato en dosis diarias de 0,05 a 1 mg por kg de peso corporal, con mayor preferencia en dosis diarias de 0,1 a 0,8 mg por kg de peso corporal y, con mayor preferencia aún, en dosis diarias de 0,15 mg a 0,7 mg por kg de peso corporal, como, por ejemplo, en dosis diarias de aproximadamente 0,2 mg, aproximadamente 0,4 mg o aproximadamente 0,6 mg por kg de peso corporal. Las dosis orales diarias de aproximadamente 15 mg, aproximadamente 30 mg y  
30 aproximadamente 45 mg de pioglitazona por paciente se prefieren particularmente.

En particular, la ciglitazona o troglitazona se administran, preferentemente, de acuerdo con la invención en dosis diarias de 1 a 20 mg por kg de peso corporal, con mayor preferencia en dosis diarias de 2 a 15 mg por kg de peso corporal y, con mayor preferencia aún, en dosis diarias de 3 mg a 10 mg por kg de peso corporal. Se prefieren particularmente las dosis orales.

35 En general, un activador de Nrf2 preferido se administra en combinación con un agonista de PPAR gamma preferido, preferentemente, en forma oral, en dosis diarias de 0,1 mg a 20 mg por kg de peso corporal, según la actividad y la seguridad del activador de Nrf2 respectivo.

La relación entre las dosis del agonista de PPAR gamma y del activador de Nrf2 utilizadas en las combinaciones de acuerdo con la presente invención, depende de la actividad del agonista de PPAR gamma particular y el activador de  
40 Nrf2 particular seleccionados.

Se prefieren particularmente dosis orales diarias de 2 mg, 4 mg y 8 mg rosiglitazona por paciente.

Las dosis orales diarias de aproximadamente 120 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 600 mg y aproximadamente 720 mg de fumarato de dimetilo por paciente se prefieren particularmente.

45 Si el activador de Nrf2 es fumarato de dimetilo, se prefiere una dosis de una o dos veces por día.

Las formas de dosis preferidas y, en particular, las formas de dosis orales como, por ejemplo, comprimidos o cápsulas, pueden contener:

50 Para la administración de tres veces diarias, las formas de dosis preferidas como, por ejemplo, comprimidos o cápsulas, pueden contener aproximadamente 0,7 mg, con preferencia aproximadamente 0,67 mg de rosiglitazona y 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 1,3 mg, con preferencia aproximadamente 1,33 mg de rosiglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 2,7 mg, con preferencia aproximadamente 2,67 mg de rosiglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 0,7 mg, con preferencia aproximadamente 0,67 mg, de rosiglitazona y 120 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 1,3 mg, con preferencia aproximadamente 1,33 mg de rosiglitazona y aproximadamente 120 mg de

fumarato de dimetilo o aproximadamente 2,7 mg, con preferencia, aproximadamente 2,67 mg de rosiglitazona y aproximadamente 120 mg de fumarato de dimetilo. Con mayor preferencia aún, una forma de dosis puede contener aproximadamente 2,7 mg, con preferencia aproximadamente 2,67 mg de rosiglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo.

- 5 Para la administración de dos veces diarias, las formas de dosis preferidas como, por ejemplo, comprimidos o cápsulas pueden contener aproximadamente 1 mg de rosiglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 2 mg de rosiglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 4 mg de rosiglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo.

- 10 Para la administración de tres veces diarias, las formas de dosis preferidas como, por ejemplo, comprimidos o cápsulas, pueden contener aproximadamente 5 mg de pioglitazona y 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 10 mg de pioglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 15 mg de pioglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 5 mg de pioglitazona y 120 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 10 mg de pioglitazona y aproximadamente 120 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 15 mg de pioglitazona y aproximadamente 120 mg de fumarato de dimetilo. Con mayor preferencia aún, una forma de dosis puede contener aproximadamente 15 mg de pioglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo.

- 15 Para la administración de dos veces diarias, las formas de dosis preferidas como, por ejemplo, comprimidos o cápsulas, pueden contener aproximadamente 7,5 mg de pioglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 15 mg de pioglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo o aproximadamente 22,5 mg de pioglitazona y aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo.

- 20 Más aún, se prefieren composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención que comprenden como agonista de PPAR gamma aproximadamente 5 mg, aproximadamente 7,5 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 22,5 mg o aproximadamente 25 mg de pioglitazona. Incluso, se prefieren composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención que comprenden un agonista de PPAR gamma de aproximadamente 0,7 mg, aproximadamente 1 mg, aproximadamente 1,3 mg, aproximadamente 2 mg, aproximadamente 2,7 mg, aproximadamente 3 mg, aproximadamente 3,5 mg, aproximadamente 4 o aproximadamente 5 mg de rosiglitazona.

Se prefieren composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención que comprenden alrededor de 120 mg, aproximadamente 200 mg o aproximadamente 240 mg de fumarato de dimetilo.

- 30 Las relaciones preferidas entre la rosiglitazona y el fumarato de dimetilo se seleccionan de 1/20 a 1/400 (p/p, rosiglitazona/fumarato de dimetilo), con preferencia de 1/25 a 380, con mayor preferencia de 1/28 a 1/360. Con mayor preferencia aún, las relaciones son de aproximadamente 1/30, aproximadamente 1/45, como, por ejemplo, aproximadamente 1/44,4, aproximadamente 1/60, aproximadamente 1/90, como, por ejemplo, aproximadamente 1/88,9 o aproximadamente 1/92,3, aproximadamente 1/120, aproximadamente 1/180, como, por ejemplo, 1/171,4 o 1/184,6, aproximadamente 1/240, aproximadamente 1/340, como, por ejemplo, aproximadamente 1/342,9.

- 35 Las relaciones preferidas entre la pioglitazona y el fumarato de dimetilo se seleccionan de 1/3 a 1/60 (p/p, pioglitazona/fumarato de dimetilo), con preferencia de 1/4 a 1/55, con mayor preferencia de 1/5 a 1/52. Con mayor preferencia aún, las relaciones son de aproximadamente 1/5,3, aproximadamente 1/8, aproximadamente 1/10, como, por ejemplo, 1/10,7, aproximadamente 1/12, aproximadamente 1/16, aproximadamente 1/24, aproximadamente 1/32, aproximadamente 1 a 48.

Se prefieren las formas de dosis y, en particular, las formas de dosis orales como, por ejemplo, comprimidos o cápsulas, que contienen tanto al agonista de PPAR gamma como también a un activador de Nrf2 en una combinación de dosis fija que contiene a las composiciones mencionadas anteriormente en las relaciones indicadas.

- 45 Se prefieren más aún las combinaciones de dosis fijas, como, por ejemplo, comprimidos que contienen ingredientes activos en las cantidades y en las relaciones indicadas anteriormente.

Las composiciones farmacéuticas provistas por la presente descripción pueden comprender una cantidad terapéuticamente efectiva de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 junto con una cantidad adecuada de uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables de manera de proporcionar una composición para la administración adecuada a un paciente. Los vehículos farmacéuticos adecuados se encuentran descritos en la técnica.

- 50 En ciertas realizaciones, un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 se pueden incorporar juntos en las composiciones farmacéuticas que se administrarán en forma oral. La administración oral de las composiciones farmacéuticas puede resultar en la captación del agonista de PPAR gamma y del activador de Nrf2 a través del intestino y el ingreso a la circulación sistémica. Las composiciones orales se pueden preparar de manera conocida en la técnica farmacéutica y comprender un agonista de PPAR gamma, un activador de Nrf2 y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas orales pueden incluir una cantidad terapéuticamente efectiva de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 y una cantidad adecuada de un vehículo farmacéuticamente aceptable, de manera de proporcionar una forma adecuada para la administración a un paciente.

Un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 pueden incorporarse juntos en composiciones farmacéuticas para ser administrados mediante cualquier otra vía de administración adecuada entre las que se incluyen, la intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica, rectal, por inhalación, o tópica.

- 5 Las composiciones farmacéuticas que comprenden un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 se pueden elaborar por medio de procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulamiento, atrapamiento, o liofilización. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de manera convencional con el uso de uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables, que facilitan el procesamiento del agonista de PPAR gamma y del activador de Nrf2 o sus formas cristalinas y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables en formulaciones de uso farmacéutico. La formulación adecuada depende de la vía de administración seleccionada. Las composiciones farmacéuticas provistas por la presente descripción pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, 10 píldoras, pellas, cápsulas, cápsulas que contienen líquidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, atomizaciones, suspensiones, o cualquier otra forma adecuada para la administración a un paciente. Las composiciones farmacéuticas provistas por la presente descripción se pueden formular en una forma de dosis por unidad. Una forma de dosis por unidad se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada para una dosis unitaria para pacientes en tratamiento, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 calculada para producir un efecto terapéutico deseado. Una forma de dosis por unidad puede ser una única dosis diaria, para administrarse 2 veces por día, o bien una de múltiples dosis diarias, por ejemplo, 3 o más veces por día. Cuando se utilizan múltiples dosis diarias, una forma de dosis por unidad puede ser igual o diferente para cada dosis. Una o más formas de dosis pueden comprender una dosis que se puede administrar a un paciente en un único momento o durante un intervalo de tiempo.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 se pueden formular para la liberación inmediata, controlada, sostenida o retrasada.

- 25 En ciertas realizaciones, una forma de dosis oral provista por la presente descripción puede ser una forma de dosis de liberación controlada. Las tecnologías de administración controlada pueden mejorar la absorción de un fármaco en una región particular o en regiones particulares del tracto gastrointestinal. Los sistemas de administración controlada de fármacos puede diseñarse para administrar un fármaco de manera que el nivel de fármaco se mantenga dentro de una ventana terapéuticamente efectiva y a niveles sanguíneos efectivos y seguros durante todo el período durante el cual el sistema continúe administrando el fármaco con un perfil de liberación particular en el tracto gastrointestinal. La administración controlada del fármaco puede producir niveles sanguíneos sustancialmente constantes del agonista de PPAR gamma y del activador de Nrf2 durante un período de tiempo en comparación con las fluctuaciones observadas con las formas de dosis de liberación inmediata. Para algunos agonistas de PPAR gamma y activadores de Nrf2, el mantenimiento de una concentración constante sanguínea y tisular durante todo el transcurso de la terapia es el modo de tratamiento más deseable. La liberación inmediata del agonista de PPAR gamma y el activador de Nrf2 puede ocasionar que los niveles sanguíneos lleguen a un pico por sobre el nivel requerido para producir una respuesta deseada, lo cual puede desperdiciar los agentes y puede causar o exacerbar efectos secundarios tóxicos. La administración controlada del fármaco puede resultar en una terapia óptima y no sólo puede reducir la frecuencia de la dosificación, sino también reducir la gravedad de los efectos secundarios. Los ejemplos de formas de dosis de liberación controlada incluyen sistemas de disolución controlada, sistemas de difusión controlada, resinas de intercambio de iones, sistemas osmóticamente controlados, sistemas de matriz erosionable, formulaciones independientes del pH, sistemas de retención gástrica, y similares.

- Una forma de dosis oral adecuada para una composición farmacéutica en particular provista por la presente invención puede depender, al menos en parte, de las propiedades de absorción gastrointestinal del agonista de PPAR gamma y del activador de Nrf2 y la estabilidad de estos agentes en el tracto gastrointestinal, su farmacocinética y el perfil terapéutico deseado. Una forma de dosis oral de liberación controlada adecuada se puede seleccionar para un agonista de PPAR gamma particular y un activador de Nrf2 particular. Por ejemplo, las formas de dosis orales de retención gástrica pueden ser adecuadas para agentes absorbidos, principalmente, desde el tracto superior gastrointestinal y las formas de dosis orales de liberación sostenida pueden ser adecuadas para agentes absorbidos en el tracto inferior gastrointestinal.

- En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas provistas por la presente descripción pueden practicarse con formas de dosis adaptadas para proveer una liberación sostenida de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 ante la administración oral. Las formas de dosis orales de liberación sostenida se pueden usar para liberar el agonista de PPAR gamma y/o el activador de Nrf2 durante un período de tiempo prolongado y son útiles cuando se desea que un agente se administre en el tracto gastrointestinal inferior. Las formas de dosis orales de liberación sostenida incluyen cualquier forma de dosis oral que mantiene concentraciones terapéuticas de los agentes en un fluido biológico como, por ejemplo, el plasma, la sangre, el fluido cerebroespinal, o en un tejido u órgano durante un período de tiempo prolongado. Las formas de dosis orales de liberación sostenida incluyen sistemas de difusión controlada como, por ejemplo, dispositivos de depósitos y dispositivos de matrices, sistemas de disolución controlada, sistemas osmóticos, y sistemas de erosión controlada. Las formas de dosis orales de liberación sostenida y los procedimientos para su preparación se conocen muy bien en la técnica.

En cada una de las formas de dosis mencionadas precedentemente, el agonista de PPAR gamma se puede formular junto en una mezcla o bien, con preferencia, en forma separada del activador de Nrf2. Cada agonista de PPAR gamma y activador de Nrf2 pueden estar contenidos, preferentemente, en forma separada dentro de la forma de dosis, como, por ejemplo, una forma de dosis oral, que, con preferencia, es un comprimido o una cápsula. En la forma de dosis oral, cuando el agonista de PPAR gamma y el activador de Nrf2 están separados, cada agente se puede formular con diferentes excipientes. Cada agonista de PPAR gamma y cada activador de Nrf2 también puede estar contenido en formulaciones con diferentes perfiles de liberación, es decir con una liberación inmediata, controlada o retardada.

Las formulaciones y, en particular, las formas de dosis orales sólidas que contienen un agonista de Agonista de PPAR gamma y/o un activador de Nrf2 pueden contener un aditivo convencional en el campo de las preparaciones farmacéuticas y se pueden producir también de acuerdo con un procedimiento conocido. Como aditivo, se pueden mencionar, por ejemplo, un excipiente, desintegrante, aglutinante, lubricante, agente colorante, regulador del pH, tensioactivo, agente de liberación sostenida, estabilizante, agente agrio, saborizante, deslizante y similares. Estos aditivos se utilizan en una cantidad utilizada convencionalmente en el campo de la preparación farmacéutica.

Como excipientes, se pueden mencionar, por ejemplo, almidones como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de papa, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón parcialmente pregelatinizado, almidón pregelatinizado, almidón poroso y similares; azúcares y alcoholes de azúcares como, por ejemplo, lactosa, fructosa, glucosa, D-manitol, sorbitol y similares; fosfato de calcio anhidro, celulosa cristalina, carbonato de calcio precipitado, silicato de calcio y similares.

Como desintegrantes, se utilizan, por ejemplo, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de calcio, almidón de carboximetilo de sodio, sodio de croscarmellose, crospovidona, hidroxipropilcelulosa de baja sustitución, almidón de hidroxipropilo y similares. La cantidad de desintegrante que se utilizará es, con preferencia, de 0,5-25 partes en peso, con mayor preferencia 1-15 partes en peso, por 100 partes en peso de la preparación sólida.

Como aglutinantes, se pueden mencionar, por ejemplo, celulosa cristalina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, polvo de goma arábiga y similares. La cantidad del aglutinante que se utilizará es, con preferencia, 0,1-50 partes en peso, con mayor preferencia 0,5-40 partes en peso, por 100 partes en peso de la preparación sólida.

Los ejemplos preferidos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, ésteres de sucrosa de ácidos grasos, fumarato de estearilo de sodio y similares. Como agentes colorantes, se pueden mencionar, por ejemplo, colores alimenticios como, por ejemplo, amarillo alimenticio Nro. 5, rojo alimenticio Nro. 2, azul alimenticio nro. 2 y similares, colores laca alimenticia, óxido de hierro y similares. Como regulador del pH, se pueden mencionar el citrato, fosfato, carbonato, tartrato, fumarato, acetato, sal de aminoácido y similares. Como tensioactivo, se pueden mencionar el laurilsulfato de sodio, polisorbato 80, polioxietileno (160) polioxipropilenglicol (30) y similares.

Como agente de liberación sostenida, se pueden mencionar, por ejemplo, polímeros de celulosa como, por ejemplo, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa (preferentemente hidroxipropilmetil celulosa 2910, hidroxipropilmetil celulosa 2208 y similares), acetato de celulosa (con preferencia, acetato de celulosa que posee un contenido de acetilo de 3 9,3-40%), diacetato de celulosa, triacetato de celulosa, propionato de acetato de celulosa, celulosa de etilo, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de sodio de celulosa cristalina y similares; alginato de sodio, polímero de carboxivinilo; polímeros de ácido acrílico como, por ejemplo, copolímero de aminoalquilmetacrilato RS [Eudragit RS (marca comercial), Rohm Pharma], suspensión de copolímero de acrilato de etilo-metacrilato de metilo [Eudragit NE (marca comercial), Rohm Pharma] y similares. El agente de liberación sostenida puede contener, por ejemplo, mejoradores de flujo (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, sucrosa, sorbitol, D-manitol, polietilenglicol (preferentemente polietilenglicol 400 y similares), propilenglicol, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetil celulosa, ftalato de hidroxipropilmetil celulosa, ftalato de acetato de celulosa, alcohol de polivinilo, polímero de ácido metacrílico), plastificantes (por ejemplo, triacetina, monoglicérido acetilado, aceite de semilla de uvas, aceite de oliva, aceite de sésamo, citrato de acetiltributilo, citrato de acetiltrietilo, sorbitol de glicerina, oxalato de dietilo, maleato de dietilo, fumarato de dietilo, succinato de dibutilo, malonato de dietilo, ftalato de dioctilo, sebacato de dibutilo, citrato de trietilo, citrato de tributilo, tributirato de glicerol) y similares. Los ejemplos preferidos de agente de liberación sostenida incluyen (1) un recubrimiento de membrana semipermeable que contiene acetato de celulosa (preferentemente acetato de celulosa que posee un contenido de acetilo de 3 9,3-40%), polietilenglicol (preferentemente, polietilenglicol 400 y similares) y triacetina; (2) una composición de liberación sostenida que contiene carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmetil celulosa 2910, hidroxipropilmetil celulosa 2208, celulosa microcristalina; y similares.

Como estabilizantes, se pueden mencionar, por ejemplo, tocoferol, edetato de tetrasodio, nicotinamida, ciclodextrinas y similares. Como agente agrio se pueden mencionar, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido málico y similares. Como saborizantes se pueden mencionar, por ejemplo, mentol, aceite de menta, aceite de limón, vainillina y similares. Como deslizante se pueden mencionar, por ejemplo, ácido salicílico anhidro liviano, dióxido de silicio hidratado y similares.

Los aditivos mencionados precedentemente se pueden usar en una mezcla de dos o más de ellos en una relación adecuada.

**Uso**

Una dosis adecuada para cada agonista de PPAR gamma y activador de Nrf2 se puede determinar en base a varios factores entre los que se incluyen, por ejemplo, el peso corporal y/o el estado del paciente en tratamiento, la gravedad de la enfermedad bajo tratamiento, la incidencia y/o gravedad de los efectos secundarios, el modo de administración, y el criterio del médico interviniente. Los intervalos de dosis adecuados se pueden determinar mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica.

En una realización, la invención provee una combinación de un activador de Nrf2 y un agonista de PPAR gamma para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

En otra realización, la invención provee un agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con mono- y/o diéster de ácido fumárico, caracterizado porque el agonista de PPAR gamma es selectivo y no posee ninguna actividad sustancial sobre PPAR alfa o delta.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 se puede administrar como tratamiento o medida preventiva para un paciente que presenta una predisposición para y/o historia de enfermedades inmunológicas, autoinmunes, y/o inflamatorias que incluyen esclerosis múltiple.

En muchos casos, la monoterapia con los activadores de Nrf2 mencionados precedentemente se pueden mejorar aún más con la coadministración de un agonista de PPAR, como, por ejemplo, una glitazona como pioglitazona o rosiglitazona.

De acuerdo con otra realización de la invención, la administración o coadministración de una combinación de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 es efectiva para tratar un miembro del grupo de enfermedades que consisten en un trastorno neurológico, un trastorno oftalmológico, en un mamífero, con inclusión, en forma no taxativa, del ser humano.

De acuerdo con otra realización, el trastorno neurológico, un trastorno oftalmológico, o una combinación de ellos es esclerosis múltiple.

Preferentemente, el procedimiento inventivo de tratamiento y las combinaciones se pueden usar en la profilaxis y el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, como, por ejemplo, esclerosis múltiple, síndrome clínicamente aislado (CIS) que conduce a la esclerosis múltiple.

La esclerosis múltiple (MS) es una enfermedad autoinmune inflamatoria del sistema nervioso central causada por un ataque autoinmune contra las láminas de mielina axonales aislantes del sistema nervioso central. La desmielinación conduce a la ruptura de la conducción y a la enfermedad grave con la destrucción de axones locales y la muerte irreversible de las células neuronales. Los síntomas de la MS varían considerablemente con cada paciente que presenta un patrón particular de perturbaciones motoras, sensibles y sensoriales. La MS está patológicamente tipificada por múltiples focos inflamatorios, placas de desmielinación, gliosis, y patología axonal dentro del cerebro y la médula espinal, todos los cuales contribuyen a las manifestaciones clínicas de incapacidad neurológica (véanse, por ejemplo, Wingerchuk, *Lab Invest* 2001, 81, 263-281; y Virley, *NeuroRx* 2005, 2(4), 638-649). Aunque los eventos causales que precipitan la MS no se comprenden completamente, la prueba implica una etiología autoinmune junto con factores ambientales, así como también predisposiciones genéticas específicas. El deterioro funcional, la incapacidad y discapacidad se expresan como parálisis, perturbaciones sensoriales y cognitivas, espasticidad, temblor, falta de coordinación y perturbación visual, que impactan en la calidad de vida del individuo. El curso clínico de la MS puede variar de individuo a individuo, pero invariablemente la enfermedad se puede categorizar en tres formas: de relapso-remisión, progresiva secundaria y progresiva primaria.

Los estudios sustentan la eficacia de los ésteres de ácido fumárico para tratar la MS y han pasado la prueba clínica de fase II (Schimrigk et al, *Eur J Neurology* 2006, 13, 604-610; y Wakke y Thio, *Current Opinion Investigational Drugs* 2007, 8(11), 955-962). La evaluación de la eficacia del tratamiento de la MS en los ensayos clínicos se puede realizar con herramientas como, por ejemplo, la escala de estado de incapacidad expandida y la funcional de MS así como también carga de lesiones para análisis por imágenes por resonancia magnética, biomarcadores y autoinforme de la calidad de vida. Los modelos animales de la MS que resultaron útiles para la identificación y validación de la terapéutica potencial incluyen los modelos de roedores de encefalomiелitis autoinmune/alérgica experimental (EAE) que simulan las manifestaciones clínicas y patológicas de la MS y los modelos de EAE primates no humanos.

**Administración**

La combinación de un activador de Nrf2 y un agonista de PPAR gamma y sus composiciones farmacéuticas se pueden administrar en forma oral o mediante cualquier otra vía adecuada, por ejemplo, por infusión o inyección de bolo, por absorción a través de los revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, la mucosa oral, rectal, y la mucosa intestinal, etc.). Otras vías de administración adecuadas incluyen, en forma no taxativa, la intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica, rectal, por inhalación, o tópica.

La administración puede ser sistémica o local. Se conocen diversos sistemas de administración, por ejemplo, la encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc.) que se pueden usar para administrar un

compuesto y/o una composición farmacéutica.

Para la administración sistémica, una dosis terapéuticamente efectiva se puede estimar inicialmente a partir de ensayos *in vitro*. Por ejemplo, una dosis se puede formular en modelos animales para lograr un intervalo de concentración de la composición circulante beneficioso. Las dosis iniciales también se pueden estimar a partir de datos *in vivo*, por ejemplo, de modelos animales con técnicas conocidas en la técnica. Esa información se puede utilizar para determinar en forma más precisa las dosis útiles en humanos. Un experto en la técnica puede optimizar la administración a los humanos en base a datos obtenidos con animales.

La realización "agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un mono- y/o diéster del ácido fumárico en el tratamiento de una enfermedad autoinmune e/o inflamatoria" se refiere a un procedimiento de uso de al menos un agonista de PPAR gamma en combinación con un mono- y/o diéster de ácido fumárico en el tratamiento de una enfermedad autoinmune e/o inflamatoria.

Las realizaciones preferidas de la invención se encuentran descritas a continuación:

1. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un mono- y/o diéster de ácido fumárico en el tratamiento de una enfermedad autoinmune e/o inflamatoria.

2. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un mono- y/o diéster de ácido fumárico de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o la realización 1, caracterizado porque la enfermedad autoinmune e/o inflamatoria se selecciona del grupo de esclerosis múltiple.

3. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un mono- y/o diéster de ácido fumárico, de acuerdo con las realizaciones mencionadas anteriormente, caracterizado porque el agonista de PPAR gamma se selecciona del grupo de rosiglitazona, pioglitazona, troglitazona y ciglitazona.

4. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un mono- y/o diéster de ácido fumárico, de acuerdo con las realizaciones mencionadas precedentemente, caracterizado porque el mono- y/o diéster del ácido fumárico se selecciona del grupo de fumarato de monometil hidrógeno, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetil hidrógeno, y fumarato de dietilo.

5. Una composición farmacéutica que comprende un agonista agonista de PPAR gamma y un mono- y/o diéster de ácido fumárico y, opcionalmente, uno o más excipientes.

6. Una composición farmacéutica que comprende rosiglitazona, pioglitazona, troglitazona o ciglitazona y un mono- y/o diéster de ácido fumárico y, opcionalmente, uno o más excipientes.

7. Una composición farmacéutica de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 5 o 6, caracterizada porque el mono- y/o diéster de ácido fumárico se selecciona del grupo de fumarato de monometilhidrógeno, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilhidrógeno, y fumarato de dietilo.

8. Una forma de dosis oral sólida que comprende un agonista de PPAR gamma y un mono- y/o diéster de ácido fumárico.

9. Una forma de dosis oral sólida que comprende rosiglitazona, pioglitazona, troglitazona o ciglitazona como agonista de PPAR gamma y un mono- y/o diéster de ácido fumárico.

10. Una forma de dosis oral sólida de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 8 o 9, caracterizada porque el mono- y/o diéster de ácido fumárico se selecciona del grupo de fumarato de monometilhidrógeno, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilhidrógeno, y fumarato de dietilo.

11. Una forma de dosis oral sólida de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 8 a 9, caracterizada porque el agonista de PPAR gamma y el mono- y/o diéster de ácido fumárico se encuentran cada uno contenido en la forma de dosis en una composición separada que contiene opcionalmente uno o más excipientes.

12. Kit de partes que comprende a) un agonista de PPAR gamma y b) un mono- y/o diéster de ácido fumárico y, opcionalmente, c) instrucciones para el régimen de dosis.

13. Kit de partes que comprende a) rosiglitazona, pioglitazona, troglitazona o ciglitazona b) un mono- y/o diéster de ácido fumárico y, opcionalmente, c) instrucciones para un régimen de dosis.

14. Kit de partes de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 12 o 13, caracterizado porque el mono- y/o diéster de ácido fumárico se selecciona del grupo de fumarato de monometilhidrógeno, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilhidrógeno, y fumarato de dietilo.

15. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 seleccionado del grupo de fumarato de monoalquil hidrógeno y fumarato de dialquilo en el tratamiento de la esclerosis múltiple.

16. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 de acuerdo con las realizaciones precedentes, caracterizado porque la esclerosis múltiple incluye la esclerosis múltiple de relapso-remisión (RR), progresiva secundaria (SP por sus iniciales en inglés), progresiva primaria (PP) y de relapso progresiva (PR) y el primer evento de desmielinación sugerente de la MS o síndrome clínicamente aislado (CIS).
- 5 17. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 de acuerdo con las realizaciones precedentes, caracterizado porque el agonista de PPAR gamma es una glitazona.
18. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 de acuerdo con las realizaciones precedentes, caracterizado porque el agonista de PPAR gamma es una glitazona seleccionada del grupo de pioglitazona y rosiglitazona.
- 10 19. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 de acuerdo con las realizaciones precedentes, caracterizado porque el activador de Nrf2 se selecciona del grupo de fumarato de monometilhidrógeno y fumarato de dimetilo.
20. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 de acuerdo con las realizaciones precedentes, caracterizado porque las relaciones entre la rosiglitazona y el fumarato de dimetilo se seleccionan de 1/20 a 1/400 (p/p, de rosiglitazona/fumarato de dimetilo).
- 15 21. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 de acuerdo con las realizaciones precedentes, caracterizado porque las relaciones entre la pioglitazona y el fumarato de dimetilo se seleccionan de 1/3 a 1/60 (p/p, de pioglitazona/fumarato de dimetilo).
22. Una composición farmacéutica que comprende un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 seleccionado del grupo de fumarato de monoalquil hidrógeno y fumarato de dialquilo y opcionalmente, uno o más excipientes.
- 20 23. Una composición farmacéutica de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o la realización 22, caracterizado porque el agonista de PPAR gamma es una glitazona.
24. Una composición farmacéutica de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o la realización 23, caracterizada porque la glitazona se selecciona del grupo de pioglitazona y rosiglitazona.
- 25 25. Una composición farmacéutica de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 23 a 24, caracterizada porque el activador de Nrf2 se selecciona del grupo de fumarato de monometilhidrógeno, y fumarato de dimetilo.
26. Una composición farmacéutica de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 23 a 25, caracterizada porque las relaciones entre la rosiglitazona y el fumarato de dimetilo se seleccionan de 1/20 a 1/400 (p/p, rosiglitazona/fumarato de dimetilo).
- 30 27. Una composición farmacéutica de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 23 a 25, caracterizada porque las relaciones entre la pioglitazona y el fumarato de dimetilo se seleccionan de 1/3 a 1/60 (p/p, pioglitazona/fumarato de dimetilo).
28. Una forma de dosis oral sólida que comprende a la composición farmacéutica de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o las realizaciones 22 a 27.
- 35 29. Una forma de dosis oral sólida que comprende un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 seleccionado del grupo de fumarato de monoalquil hidrógeno, y fumarato de dialquilo y, opcionalmente, uno o más excipientes, en los que el agonista de PPAR gamma y el activador de Nrf2 se encuentran cada uno de ellos contenido en una formulación farmacéutica separada.
- 40 30. Kit de partes que comprende a) un agonista de PPAR gamma y b) un activador de Nrf2 seleccionado del grupo de fumarato de monoalquil hidrógeno, fumarato de dialquilo y, opcionalmente, c) instrucciones para un régimen de dosis.
31. Kit de partes que comprende a) un agonista de PPAR y b) un activador de Nrf2 seleccionado del grupo de fumarato de monoalquil hidrógeno, fumarato de dialquilo y bardoxolona alquilo y, opcionalmente, c) instrucciones para un régimen de dosis.
- 45 32. Kit de partes de acuerdo con la realización precedente, caracterizado porque el agonista de PPAR gamma es rosiglitazona o pioglitazona.
33. Kit de partes de acuerdo con la realización precedente, caracterizado porque el activador de Nrf2 es fumarato de dimetilo.
- 50 34. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 para el tratamiento de la esclerosis múltiple de acuerdo con las realizaciones precedentes, en el que dicho agonista de PPAR se administra a un paciente de manera simultánea con o hasta 2 días antes o luego de la administración a un paciente de un activador de Nrf2,

como, por ejemplo, aquellos seleccionados del grupo de fumarato de monoalquil hidrógeno, y fumarato de dialquilo.

35. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 para el tratamiento de la esclerosis múltiple de acuerdo con las realizaciones precedentes, en el que el agonista de PPAR se administra una o dos veces por día.

- 5 36. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 para el tratamiento de la esclerosis múltiple de acuerdo con las realizaciones precedentes, en el que dicho activador de Nrf2 se administra una o veces por día.

- 10 37. Los activadores de Nrf2 preferidos para su uso en combinación de acuerdo con la divulgación son compuestos químicos, que contienen menos de 35, con preferencia menos de 30, con mayor preferencia menos de 25 y, con mayor preferencia aún, menos de 20 o, incluso, menos de 15 o menos de 10 átomos de carbono y/o poseen un peso molecular inferior a 400, con preferencia inferior a 300 y, con mayor preferencia aún, inferior a 200 g/mol o inferior a 170 g/mol y/o no poseen una actividad agonista significativa de PPAR gamma. Se prefieren las composiciones que contienen a estos activadores de Nrf2.

- 15 38. El agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 y las composiciones de acuerdo con cualquiera de las realizaciones precedentes, caracterizado porque el activador de Nrf2 se selecciona de ésteres de ácido fumárico, es decir, mono- y/o diéster del ácido fumárico que, con preferencia, se selecciona del grupo de fumarato de monoalquil hidrógeno y fumarato de dialquilo, como, por ejemplo, fumarato de monometilhidrógeno, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilhidrógeno, y fumarato de dietilo, y un estereoisómero farmacológicamente activo o derivado de los agentes mencionados anteriormente.

- 20 39. Agonista de PPAR gamma para su uso en combinación con un activador de Nrf2 y las composiciones de acuerdo con cualquiera de las realizaciones precedentes, caracterizado porque el activador de Nrf2 se selecciona de fumarato de monometilhidrógeno y fumarato de dimetilo.

40. Una composición farmacéutica que comprende pioglitazona, fumarato de dimetilo y, opcionalmente, uno o más excipientes.

- 25 41. Una composición farmacéutica que comprende fumarato de dimetilo y un agonista de PPAR gamma seleccionado de rosiglitazona, troglitazona y ciglitazona, y, opcionalmente, uno o más excipientes.

42. Una forma de dosis oral sólida que comprende un agonista de PPAR gamma seleccionado del grupo de glitazonas y un monoalquil y/o dialquiléster de ácido fumárico y, opcionalmente, uno o más excipientes.

- 30 43. Una forma de dosis oral sólida de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o la realización 42, en la que el dialquiléster del ácido fumárico se selecciona de fumarato de dimetilo y fumarato de dietilo y el monoalquiléster del ácido fumárico se selecciona de fumarato de monometilhidrógeno y fumarato de monoetilhidrógeno.

44. Una forma de dosis oral sólida de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o la realización 42 o 43, en la que el agonista de PPAR gamma glitazona se selecciona de pioglitazona y rosiglitazona.

- 35 45. Kit de partes que comprende a) un agonista de PPAR gamma seleccionado del grupo de glitazonas y b) un monoalquil y/o dialquiléster del ácido fumárico y, opcionalmente, c) instrucciones para un régimen de dosis.

46. Kit de partes acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o la realización 45, en el que el dialquiléster del ácido fumárico se selecciona de fumarato de dimetilo y fumarato de dietilo y el monoalquiléster del ácido fumárico se selecciona de fumarato de monometilhidrógeno y fumarato de monoetilhidrógeno.

- 40 47. Kit de partes de acuerdo con una o más de las realizaciones precedentes y/o la realización 45 o 46, en el que el agonista de PPAR gamma glitazona se selecciona de pioglitazona y rosiglitazona.

El papel de las especies de oxígeno reactivo y antioxidantes en las enfermedades inflamatorias se ha descrito en Journal of Clinical Periodontology Volumen 24, publicación 5, 1997, páginas 287-296.

- 45 Puede usarse pioglitazona en la forma enantioméricamente pura o enriquecida, tal como se describe en WO 2011015868 y WO 2011098746, la cual es particularmente ventajosa para los enjuagues bucales orales, o geles orales, soluciones de inhalación, gotas para los ojos y cremas o geles tópicos o parches para el tratamiento de la piel.

Preferentemente, el agonista de PPAR y el activador de Nrf2 utilizados en la presente invención no pertenecen a la misma clase química de compuestos, es decir el activador de Nrf2 pertenece, con preferencia, a una clase diferente de compuestos como el agonista de PPAR.

- 50 Se prefieren las formas de dosis orales sólidas que comprenden las combinaciones inventivas para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y/o autoinmunes. Las formas de dosis orales sólidas son muy conocidas en la técnica y comprenden polvos, gránulos, pastillas, cápsulas y comprimidos, como, por ejemplo, comprimidos por



compresión (CT), comprimidos recubiertos con azúcar (SCT), comprimidos recubiertos con película (FCT), comprimidos de recubrimiento entérico (ECT), comprimidos múltiples por compresión (MCT), que consisten en comprimidos realizados por más de un ciclo de compresión, comprimidos en capas, preparados mediante la compresión de una granulación de comprimido adicional sobre una granulación comprimida previamente, comprimidos de recubrimiento por prensa, comprimidos de liberación controlada, comprimidos efervescentes, supositorios comprimidos, comprimidos bucales y sublinguales, comprimidos moldeados (triturados de comprimidos, TT) y comprimidos hipodérmicos (HT). De mayor preferencia son las formas de dosis orales sólidas que contienen ambos agentes juntos en una única composición farmacéutica.

Se prefiere también una composición que comprende fumarato de dimetilo, fumarato de monometilo, opcionalmente en forma de su sal de zinc, magnesio y/o calcio y un agonista de PPAR.

Los comprimidos de pioglitazona y rosiglitazona se encuentran disponibles en el comercio y se pueden usar de esa forma para la terapia de combinación de acuerdo con la invención.

En una realización, los comprimidos preferidos son comprimidos recubiertos de películas que contienen maleato de rosiglitazona equivalente a la rosiglitazona, 2 mg, 4 mg, o 8 mg, para su administración por vía oral, con los siguientes ingredientes inactivos: Hypromellose 2910, monohidrato de lactosa, estearato de magnesio, celulosa microcristalina, polietilenglicol 3000, glicolato de almidón de sodio, dióxido de titanio, triacetina, y 1 o más de los siguientes: óxidos de hierro rojo y amarillo sintéticos y talco.

En una realización, el comprimido preferido para la administración por vía oral contiene 15 mg, 30 mg, o 45 mg de pioglitazona (como base) formulado con los siguientes excipientes: monohidrato de lactosa NF, hidroxipropilcelulosa NF, carboximetilcelulosa calcio NF, y estearato de magnesio NF.

Otras formulaciones se pueden obtener en forma análoga a US6355676, US7976853 y 6403121.

En toda la memoria descriptiva, el término "ninguna actividad agonista significativa de PPAR gamma" o "ningún efecto agonista significativo de PPAR gamma" significa que a la concentración terapéuticamente útil del activador de Nrf2, no se puede obtener ni medir ninguna activación de PPAR gamma terapéuticamente útil.

En toda la memoria descriptiva, el término "ningún efecto significativo sobre Nrf2", "ningún efecto activador significativo sobre Nrf2" o "ningún efecto significativo sobre la actividad de Nrf2" significa que a la concentración terapéuticamente útil del agonista de PPAR gamma, no se puede obtener ni medir ninguna activación terapéuticamente útil de Nrf2.

El término fumarato de monoalquilo y fumarato de monoalquil hidrógeno se utilizan como sinónimos, tal como, fumarato de monometilo y fumarato de monometilhidrógeno.

## EJEMPLOS

### Ejemplo 1

*Preparación de microcomprimidos de recubrimiento entérico en cápsulas que contienen 120,0 mg de fumarato de dimetilo*

De acuerdo con la patente US7320999, se trituran 12,000 kg de fumarato de dimetilo, se mezclan y homogenizan por medio de un tamiz 800. Luego, se prepara una mezcla de excipientes con la siguiente composición: 17,50 kg de derivado de almidón (STA-RX® 1500), 0,30 kg de celulosa microcristalina (Avicel® PH 101), 0,75 kg de PVP (Kollidon® 120), 4,00 kg de Primogel®, 0,25 kg de ácido salicílico coloidal (Aerosil®). Se agrega fumarato de dimetilo a toda la mezcla en polvo, se mezcla y homogeniza por medio de un tamiz 200, se procesa de la manera habitual con una solución acuosa al 2% de polividon pirrolidona (Kollidon® K25) para obtener un granulado aglutinante y, posteriormente, se mezcla en seco con la fase externa. La fase externa consta de 0,50 kg de estearato de Mg y 1,50 kg de talco.

La mezcla de polvo se comprime de la manera habitual en núcleos de microcomprimidos de 10 mg.

Para lograr resistencia al ácido gástrico, se disuelve una solución de 2,250 kg de ftalato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCP, Pharmacoat® HP 50) en porciones en una mezcla de los siguientes solventes: 13,00 L de acetona, 13,50 L de etanol (94% en peso, desnaturalizado con 2% de cetona) y 1,50 L de agua desmineralizada. Como plastificante, se agrega aceite de ricino (0,240 kg) a la solución acabada, que se aplica en porciones sobre los núcleos de microcomprimidos de la manera habitual.

Una vez completado el secado, se aplica una suspensión de la siguiente composición en forma de recubrimiento de película en el mismo aparato: 0,340 kg de talco, 0,400 kg de óxido de titanio (VI) Cronus RN 56, 0,324 kg de laca coloreada L-Rot-lack 86837, 4,800 kg de Eudragit E 12,5% y 0,120 kg de polietilenglicol 6000, pH 11 XI en una mezcla de solventes de la siguiente composición: 8,170 kg de 2-propanol, 0,200 kg de agua desmineralizada y 0,600 kg de triacetato de glicerina (Triacetin). Este procedimiento resultó en microcomprimidos de recubrimiento entérico.

Posteriormente, los microcomprimidos de recubrimiento entérico se rellenan en cápsulas de gelatina dura y se sellan

para su uso de acuerdo con la invención.

Se pueden obtener micropellets de manera similar de acuerdo con US7320999.

### Ejemplo 2

*Preparación de comprimidos que contienen pioglitazona y fumarato de dimetilo en capas separadas del comprimido*

- 5 De acuerdo con US807113, una mezcla de clorhidrato de pioglitazona (99,2 g), sodio de croscarmellosa (13,2 g) y lactosa (184,9 g) se granula mediante atomización de 136,2 g de una solución acuosa de hidroxipropilcelulosa (6,81 g), en un granulador de lecho fluido (fabricado por Powrex Corp., Model: LAB-1). El polvo granulado resultante se granula luego mediante la atomización de una suspensión obtenida por la dispersión de lactosa (36 g) en 148,6 g de una solución acuosa de hidroxipropilcelulosa (7,59 g) sobre el mismo en un granulador de lecho fluido (fabricado por
- 10 Powrex Corp., Model: LAB-1) para obtener un polvo granulado que contiene clorhidrato de pioglitazona recubierto con lactosa. A una parte (23,18 g) del polvo granulado así obtenido, se agregan sodio de croscarmellosa (0,728 g) y estearato de magnesio (0,096 g) y se mezclan para obtener un polvo mixto que contiene clorhidrato de pioglitazona. El polvo mixto que contiene clorhidrato de pioglitazona se comprime en forma de laminado con un polvo obtenido de acuerdo con el ejemplo 1, que contiene fumarato de dimetilo, un derivado de almidón (STA-RX® 1500), celulosa microcristalina (Avicel® PH 101), PVP (Kollidon® 120), Primogel®, y ácido silícico coloidal (Aerosil®).
- 15

### Ejemplo 3

- De acuerdo con US7976853, hidroxipropil celulosa (26,4 g, Grade SSL, Nippon Soda Co., Ltd.) (viscosidad de una solución acuosa al 5% a 20°C.: 8 mPa·s), polietilenglicol 6000 (1,32 g), óxido de titanio (2,64 g) y clorhidrato de pioglitazona (16,5 g) se dispersan en agua (297 g) para proporcionar una solución de recubrimiento. Los
- 20 microcomprimidos recubiertos entéricos obtenidos en el ejemplo 1 se alimentan en un equipo de recubrimiento de película (Hicoater-Mini, Freund Industrial Co. Ltd.) y se recubren con la solución de recubrimiento mencionada anteriormente para proporcionar una preparación recubierta. Posteriormente, estos microcomprimidos recubiertos entéricos, que se encuentran recubiertos con el clorhidrato de pioglitazona, se rellenan en cápsulas de gelatina dura y se sellan su uso de acuerdo con la presente invención.
- 25 Alternativamente, de acuerdo con el ejemplo 1, se puede obtener un comprimido de recubrimiento entérico que contiene la cantidad deseada de fumarato de dimetilo, seguido por un recubrimiento con una formulación de pioglitazona de acuerdo con lo descrito anteriormente. Los comprimidos se pueden usar de ese modo para el tratamiento de combinación de acuerdo con la invención.

### Ejemplo 4

- 30 Una mezcla de clorhidrato de pioglitazona (99,2 g), sodio de croscarmellosa (13,2 g) y lactosa (184,9 g) que se granula por atomización sobre ella de 136,2 g de una solución acuosa de hidroxipropilcelulosa (6,81 g), en un granulador de lecho fluido (fabricado por Powrex Corp., Model: LAB-1). El polvo granulado resultante se granula luego mediante la atomización de una suspensión obtenida por la dispersión de lactosa (36 g) en 148,6 g de una solución acuosa de hidroxipropilcelulosa (7,59 g) sobre ella en un granulador de lecho fluido (fabricado por Powrex Corp., Model: LAB-1)
- 35 para obtener un polvo granulado que contiene clorhidrato de pioglitazona recubierto con lactosa. Una cantidad deseada del polvo granulado obtenido de ese modo se rellena en cápsulas que contienen microcomprimidos de recubrimiento entérico de fumarato de dimetilo obtenidos de acuerdo con el ejemplo 1, que se sellan luego.

### Ejemplo 5

#### Protocolos experimentales generales

- 40 Si no se mencionare otra cosa, el tratamiento en los siguientes modelos animales consta de fumarato de dimetilo y pioglitazona o los animales se tratan con fumarato de dimetilo y pioglitazona en forma de su clorhidrato, que se disuelven o dispersan en 0,5% de metocelulosa/0,1% de Tween80 en agua destilada y se administran mediante sonda oral dos veces por día. Los grupos de tratamiento generalmente son de la siguiente manera: vehículo solo, fumarato de dimetilo solo, pioglitazona sola o la combinación de fumarato de dimetilo y pioglitazona. La combinación de acuerdo
- 45 con la invención resulta en una respuesta mejorada al tratamiento en comparación con el vehículo y los respectivos agentes solos.

El efecto de las combinaciones de acuerdo con la presente invención en el tratamiento del cáncer y, con preferencia, en los cánceres hematológicos como, por ejemplo, CLL y AML, se puede hallar de acuerdo con Blood. 2006 Nov 15;108(10):3530-7 y en Cancer Res June 15, 2010 70; 4949.

- 50 *Modelo animal de EAE general para evaluar el efecto terapéutico de la combinación de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 para el tratamiento de la esclerosis múltiple*

Los animales y ratones hembra de inducción de EAE C57BL/6, de 8-10 semanas de edad (Harlan Laboratories, Livermore, CA) se inmunizan por vía subcutánea en las ijadas y en la región escapular media con 200 µg de péptido de la glucoproteína de oligodendrocitos de mielina (MOG3S-Ss) (sintetizada por Invitrogen) emulsionada (relación en

volumen 1:1) con adyuvante completo de Freund (CFA) (que contiene 4 mg/mL de *Mycobacterium tuberculosis*). La emulsión se prepara mediante el procedimiento de extrusión por jeringa con dos jeringas de vidrio Luer-Lock conectadas por una llave de cierre de 3 vías. Los ratones también reciben una inyección peritoneana de 200 ng de la toxina pertussis (List Biological Laboratories, Inc, Campbell, CA) el día de la inmunización y el día dos luego de la inmunización. Los ratones se pesan y examinan diariamente para determinar los signos clínicos de la encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE). Se proveen alimento y agua *ad libitum* y una vez que los animales comienzan a mostrar la enfermedad, se les provee alimento en la parte inferior de la jaula.

#### Evaluación clínica

Se asigna diariamente un puntaje a los ratones desde el día 7 luego de la inmunización. La escala de puntajes clínicos es la siguiente (Miller y Karplus, *Current Protocols in Immunology* 2007, 15.1.1-15.1.18): 0 = normal; 1 = cola débil o debilidad en los miembros traseros (definido por el deslizamiento de las patas entre las barras de la jaula mientras caminan); 2 = cola débil y debilidad de los miembros traseros; 3 = parálisis parcial de los miembros traseros (definida como imposibilidad de soportar el peso sobre los miembros traseros pero aún puede mover uno o ambos miembros traseros hasta cierto grado); 4 = parálisis completa de los miembros traseros; 5 = estado moribundo (incluye la parálisis de los miembros delanteros) o muerte.

#### *Modelo animal para evaluar el efecto terapéutico de la combinación de un agonista de PPAR gamma y un activador de Nrf2 para tratar la esclerosis múltiple*

Se realizan experimentos en ratones hembras de 4-6 semanas de edad que pertenecen a la cepa C57BL/6 y pesan 17-20 g. La encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) se induce activamente con el uso de >95% de péptido de glucoproteína de oligodendrocitos de mielina sintético 35-55 (MOG35-55, MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK). Se procede a anestesiarse a cada ratón, que recibe cada uno 200 µg de péptido MOG y 15 µg de extracto de Saponina de Quilija bark emulsionada en 100 µL de solución salina tamponada con fosfato. Se inyectan 25 µL por vía subcutánea sobre cuatro áreas de ijadas. Los ratones también se inyectan por vía intraperitoneana con 200 ng de toxina pertussis en 200 µL de PBS. Se realiza una segunda inyección idéntica de toxina pertussis luego de 48 horas.

El tratamiento diario se extiende desde el día 26 hasta el día 36 posinmunización. Los puntajes clínicos se obtienen diariamente desde el día 0 posinmunización hasta el día 60. Los signos clínicos reciben un puntaje con el siguiente protocolo: 0, ningún signo detectable; 0,5, flaccidez de la cola distal, apariencia encorvada y comportamiento tranquilo; 1, cola completamente flácida; 1,5, cola flácida y debilidad de los miembros traseros (andar inestable y agarre pobre con los miembros traseros); 2, parálisis parcial unilateral de los miembros traseros; 2,5, parálisis bilateral de los miembros traseros; 3, parálisis total bilateral de los miembros traseros; 3,5, parálisis total de los miembros posteriores y parálisis unilateral de los miembros anteriores; 4, parálisis total de los miembros posteriores y anteriores (Eugster et al., *Eur J Immunol* 2001, 31, 2302-2312).

La inflamación y la desmielinación se evalúan por histología en los cortes de CNS de los ratones EAE. Los ratones son sacrificados luego de 30 o 60 días y se retiran las médulas espinales completas y se las coloca en una solución de sucrosa 0,32 M a 40°C durante la noche. Los tejidos se preparan y seccionan. Se utiliza una mancha azul rápida Luxol para observar las áreas de desmielinación. Se utiliza un manchado de hematoxilina y eosina para resaltar las áreas de inflamación mediante un manchado oscuro del núcleo de las células mononucleares. Las células inmunes manchadas con H&E se cuentan de manera ciega bajo un microscopio liviano. Se separan las secciones en materia gris y blanca y cada sector se cuenta manualmente antes de combinarse para proporcionar un total para la sección. Las células T se inmunoetiquetan con el anticuerpo monoclonal anti-CD3+. Luego de un lavado, las secciones se incuban con el anticuerpo secundario de HRP antirata de cabra. Las secciones se lavan luego y se contramanchan con verde de metilo. Los esplenocitos aislados de ratones a los 30 y 60 días luego de la inmunización se tratan con un amortiguador de lisis para retirar las células sanguíneas rojas. Las células se resuspenden luego en PBS y se cuentan. Las células a una densidad de aproximadamente 3 x 10<sup>6</sup> células/mL se incuban durante la noche con 20 µg/mL de MOG de péptido. Los sobrenadantes de las células estimuladas se ensayan para determinar los niveles de proteína IFN-γ con el uso de un sistema de inmunoensayo de IFN-γ de ratón adecuado.

#### *Modelo animal de EAE para evaluar el efecto terapéutico de la combinación del agonista de PPAR gamma y el activador de Nrf2 para tratar la esclerosis múltiple*

Se ordenan ratones hembras C57BL/6 (Janvier France o Charles River) entre las 7-8 semanas de edad y se los utiliza entre las semanas 9-11 luego de un período de aclimatación. La encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) es activamente inducida con >95% de péptido de glucoproteína de oligodendrocito de mielina sintético puro 35-55 (MOG35-55), Met-Glu-Val-Gly-Trp-Tyr-Arg-Ser-Pro-Phe-Ser-Arg-Val-Val-His-Leu-Tyr-Arg-Asn-Gly-Lys, Ref SC1272, NeoMPS). Se anestesia a cada ratón que recibe una inyección subcutánea de 100 µl de una emulsión adyuvante de Freund completa (Ref 263810, Difco) que contiene 200 µg de MOG35-55 y 250 µg de M. *Tuberculosis* H37 Ra (Ref 231141 Difco) seca y matada en la parte inferior del dorso. La emulsión se prepara mediante el procedimiento jeringas con dos jeringas conectadas a través del tubo de cierre Luer. Los ratones reciben también una inyección intraperitoneana de 300 ng de toxina Pertussis (Ref BML-G100, Enzo Lifescience) diluida en 200 µl de PBS. La inyección de toxina Pertussis se repite a las 48 horas. Se procede a pesar a los ratones y se los examina diariamente para determinar los signos clínicos de EAE. Se les provee alimento y agua *ad libitum*.

## Evaluación clínica

Se evaluaron los animales para determinar las deficiencias neurológicas (puntaje clínico) y se los pesó diariamente. La escala de puntajes clínicos es la siguiente: 0 = ningún signo; 0,5 = cola flácida distal; 1 = parálisis completa de la cola; 1,5 = debilidad de los miembros posteriores; 2 = parálisis unilateral parcial de los miembros posteriores; 2,5 = parálisis bilateral parcial de los miembros posteriores; 3 = parálisis completa bilateral de los miembros posteriores; 3,5 = debilidad de los miembros anteriores y parálisis completa bilateral de los miembros posteriores; 4 = cuadriplegia / moribundo; 5 = muerte por EAE.

Resultados: Evaluación del tratamiento con fumarato de dimetilo en combinación con pioglitazona en forma de su clorhidrato

- 10 Se inmunizaron cuarenta ratones hembra C57BL/6 de 8-9 semanas de edad de acuerdo con el protocolo de EAE descrito en la sección de Métodos. Los ratones se clasificaron en 4 grupos diferentes de tratamiento (n=10) y recibieron el tratamiento con HPMC 0,5%/Tween20 0,25% (vehículo para fumarato de dimetilo) b.i.d. más Kleptosa 20% (vehículo para pioglitazona) q.d., fumarato de dimetilo 60 mg/kg b.i.d. más Kleptosa 20% q.d., pioglitazona 10 mg/kg q.d. más HPMC 0,5%/Tween20 0,25% b.i.d. o fumarato de dimetilo 60 mg/kg b.i.d. más pioglitazona 10 mg/kg q.d. Por razones de simplificación, los tratamientos con los vehículos no se mencionaron en las leyendas de los gráficos y los grupos mencionados precedentemente se denominaron de control, fumarato de dimetilo 60 mg/kg bid, pioglitazona 10 mg/kg q.d. o fumarato de dimetilo + pioglitazona, respectivamente. El tratamiento con el fármaco comenzó el día 0 posinmunización. De acuerdo con la Fig 1A, la inmunización de ratones C57BL/6 con MOG35-55 induce a la discapacidad locomotora con los signos clínicos que surgen alrededor del día 9 posinmunización.
- 15
- 20 El efecto del tratamiento de combinación (fumarato de dimetilo + pioglitazona) reduce significativamente los puntajes promedios clínicos diariamente (Fig. 1A). La eficacia de la combinación fue más pronunciada y estadísticamente diferente del efecto de los tratamientos individuales. La supresión de la caquexia inducida por la inflamación actúa como marcador confiable del beneficio del tratamiento. El tratamiento de combinación (fumarato de dimetilo + pioglitazona) mejoró considerablemente el peso corporal en comparación con los tratamientos de vehículo o fármaco solamente (Fig. 1B).
- 25

El efecto del tratamiento con el fármaco sobre la prevalencia de la enfermedad se analiza en las Figs 2A-2B. El inicio de la enfermedad se define en el punto en el que cada ratón muestra por primera vez un puntaje clínico  $\geq 1$ . La Fig 2A ilustra un análisis de Kaplan Meier que muestra que los ratones del grupo de control comienzan a desarrollar EAE desde el día 9 con una susceptibilidad completa para el día 14 posinmunización. El tratamiento de combinación con fumarato de dimetilo + pioglitazona cambió la curva de inicio de EAE. No todos los animales tratados con la combinación de fármacos desarrollaron signos de la enfermedad hasta la terminación del experimento, es decir el día 22 posinmunización. El efecto del tratamiento de combinación fue estadísticamente diferente no sólo en comparación con el grupo de control sino también en comparación con cada uno de los fármacos administrados solos. La Fig 2B es una representación diferente de los mismos datos. En promedio, los ratones tratados con el vehículo, el fumarato de dimetilo o la pioglitazona solamente presentaron indistintamente los primeros signos clínicos de la enfermedad alrededor del día 12-13 posinmunización, mientras que en el grupo de combinación, el inicio promedio de EAE se produjo alrededor del día 17 posinmunización. El efecto del tratamiento de combinación fue nuevamente diferente desde el punto de vista estadístico de los otros grupos tratados e incluso más potente que en los otros grupos tratados. Estos datos muestran que el tratamiento de combinación resulta en un efecto de tratamiento sinérgico que no se observa por los tratamientos individuales.

30

35

40

Los cambios gastrointestinales, con inclusión de las hemorragias, son efectos secundarios conocidos del tratamiento con fumarato de dimetilo. El tratamiento de combinación y el tratamiento con fumarato de dimetilo solo resultaron en una hiperplasia de la macrovellosidad del estómago similar. No hubo ningún empeoramiento de los síntomas con el tratamiento de combinación. Las imágenes representativas del estómago de los ratones tratados crónicamente durante 22 días con fumarato de dimetilo, pioglitazona o sus vehículos se muestran en la Fig 3 para demostrar algunas de estas observaciones. Es de importancia que la eficacia sinérgica explicada en los párrafos anteriores no se asoció con el aumento de eventos adversos gastrointestinales.

45

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

- 50 **Figura 1:** El tratamiento de combinación con fumarato de dimetilo + pioglitazona es significativamente más eficaz que cada fármaco individual como tratamiento individual o que el tratamiento con el vehículo en los puntajes clínicos medios y también sobre los cambios del peso corporal asociados con la enfermedad. Puntajes clínicos promedios (A) y el porcentaje de los cambios en el peso corporal (B) de ratones MOG35-55 tratados con el vehículo, el fumarato de dimetilo, la pioglitazona o una combinación de ambos fármacos desde el día 0 posinmunización. Se aplicó en A Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrica) con la corrección de prueba múltiple de Dunn y la prueba t del estudiante se aplicó en B. Las barras horizontales representan  $P < 0,05$  en donde  $\lambda$  compara el tratamiento de combinación contra el vehículo;  $\psi$  compara el tratamiento de combinación contra el fumarato de dimetilo y el tratamiento de combinación contra la pioglitazona.
- 55

**Figura 2:** El tratamiento de combinación con fumarato de dimetilo + pioglitazona ocasiona un retraso en el inicio de

la enfermedad en comparación con cada fármaco individual como tratamientos independientes o tratamientos con vehículo. Análisis de Kaplan Meier de las curvas de prevalencia de la enfermedad (A) y el día de inicio promedio de la enfermedad (B) de ratones MOG35-55 tratados con el vehículo, el fumarato de dimetilo, la pioglitazona o una combinación de ambos fármacos desde el día 0 posinmunización. El inicio de la enfermedad se definió como el día en que los ratones mostraron por primera vez un puntaje clínico  $\geq 1$ . Se aplicó una prueba de Gehan-Breslow-Wilcoxon en la fig. 2A y Kruskal-Wallis seguido por la corrección de prueba múltiple de Dunn se aplicó en B. Las barras horizontales representan  $P < 0,05$  en donde  $\lambda$  compara el tratamiento de combinación contra el vehículo;  $\psi$  compara el tratamiento de combinación contra el fumarato de dimetilo y compara el tratamiento de combinación contra la pioglitazona.

**Figura 3:** Alteración en la apariencia macroscópica del estómago de los ratones tratados crónicamente con fumarato de dimetilo, pero sin pioglitazona y sin vehículo. Cuarenta ratones C57BL/6 inmunizados con MOG35-55 y tratados por sonda oral durante 22 días con una combinación de HPMC 0,5%/Tween20 0,25% b.i.d. más Kleptosa 20% q.d. (A, Figura 3A), fumarato de dimetilo 60 mg/kg b.i.d. más Kleptosa 20% q.d. (B), pioglitazona 10 mg/kg q.d. más HPMC 0,5%/Tween20 0,25% b.i.d. (C, Figura 3C) o fumarato de dimetilo 60 mg/kg b.i.d. más pioglitazona 10 mg/kg q.d. (D, Figura 3D). Un grupo adicional de cinco ratones recibió una inmunización falsa (emulsión sin MOG35-55) y se trató con HPMC 0,5%/Tween20 0,25% b.i.d. más Kleptosa 20% q.d. (E, Figura 3E). Durante todo el experimento, se sacrificaron tres ratones por compasión o sucumbieron a la enfermedad. Los cuarenta y dos animales restantes se sometieron a eutanasia bajo una anestesia terminal pentobarbital, se escindió el atrio derecho del corazón y los ratones se perfusionaron con 4% de paraformaldehído a través del ventrículo izquierdo. Se diseccionó el estómago de cada ratón por transección del segmento proximal del esófago y, luego, se abrió el duodeno por medio de una incisión longitudinal a través del eje de mayor longitud posible uniendo el tramo restante del duodeno y el *Fundus*. Cada pieza se lavó con solución salina tamponada con fosfato y se montó de manera que quedara abierta. Las imágenes mostradas son de un ratón representativo de cada grupo. Obsérvese que la apariencia de los estómagos de todos los grupos de ratones que no fueron expuestos al fumarato de dimetilo (A, C, E, Figuras 3A, 3C, 3E, respectivamente) y al aumento patológico de manera similar en la macrovellosidad de los estómagos de los grupos B y D que se trataron con fumarato de dimetilo solamente o con el tratamiento de combinación con pioglitazona, respectivamente, les proporcionó una apariencia engrosada y rugosa (Figuras 3B, 3D, respectivamente).

## REIVINDICACIONES

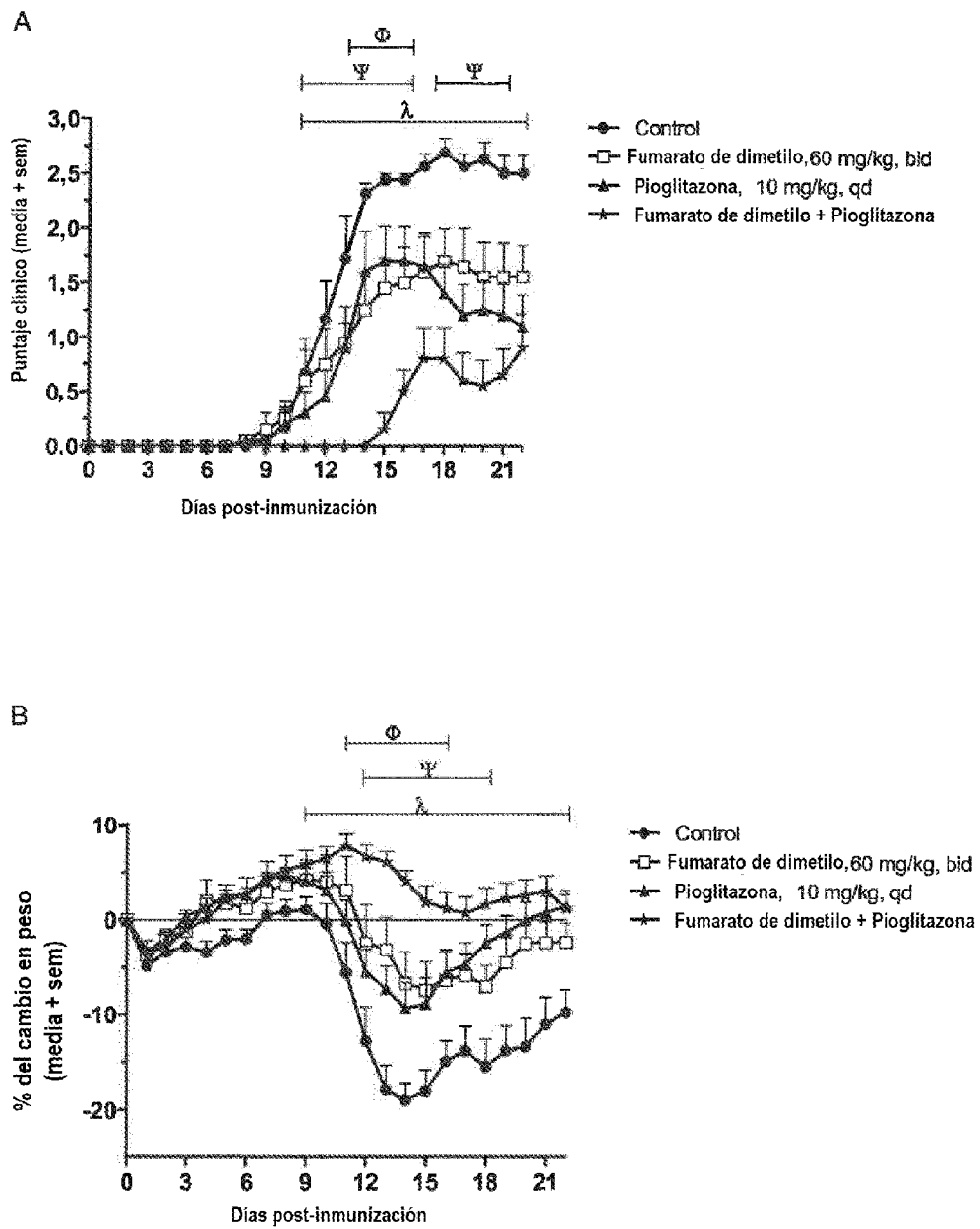
1. Un agonista de PPAR gamma seleccionado del grupo de glitazonas para su uso en el tratamiento de un trastorno autoinmune y/o inflamatorio, en el que dicho agonista de PPAR gamma se administra simultáneamente, por separado o secuencialmente con a) un activador Nrf2, seleccionado del grupo de ésteres de ácido fumárico así como estereoisómeros, tautómeros y sales de los mismos, o b) una composición farmacéutica que comprende dicho activador Nrf2 seleccionado,
- 5 en el que el trastorno autoinmunitario y/o inflamatorio es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada entre esclerosis múltiple y síndrome clínicamente aislado (CIS).
2. El agonista de PPAR gamma para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el agonista de PPAR gamma se selecciona entre pioglitazona y su clorhidrato y rosiglitazona y su maleato.
3. El agonista de PPAR gamma para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el agonista de PPAR gamma es pioglitazona en una dosis oral diaria de 15 mg, 30 mg o 45 mg.
4. El agonista de PPAR gamma para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el agonista de PPAR gamma es rosiglitazona en una dosis oral diaria de 2 mg, 4 mg u 8 mg.
5. El agonista de PPAR gamma para su uso de acuerdo con las reivindicaciones antes mencionadas, en el que el activador de Nrf2 es un éster de ácido fumárico seleccionado entre fumarato de dialquilo y fumarato de monoalquilo.
6. El agonista PPAR gamma para su uso de acuerdo con las reivindicaciones antes mencionadas, en el que el activador de Nrf2 se selecciona entre fumarato de monometilo, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilo y fumarato de dietilo.
7. El agonista de PPAR gamma para su uso de acuerdo con las reivindicaciones antes mencionadas, en el que el activador de Nrf2 es fumarato de dimetilo en una dosis oral diaria de 120 mg, 240 mg, 360 mg, 480 mg o 720 mg.
8. Una composición farmacéutica que comprende un agonista de PPAR gamma seleccionado del grupo de glitazonas y un activador de Nrf2 seleccionado del grupo de ésteres de ácido fumárico así como estereoisómeros, tautómeros y sales de los mismos, y opcionalmente uno o más excipientes.
9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación antes mencionada, en la que el agonista PPAR gamma se selecciona entre pioglitazona y su clorhidrato y rosiglitazona y su maleato.
10. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 8 o 9, que comprende 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 22,5 mg o 25 mg de pioglitazona.
11. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 8 o 9, que comprende 0,7 mg, 1 mg, 1,3 mg, 2 mg, 2,7 mg, 3 mg, 3,5 mg, 4 o 5 mg de ofrosiglitazona.
12. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 8 a 11, en la que el activador Nrf2 es un éster de ácido fumárico seleccionado entre fumarato de dialalquilo y fumarato de monoalquilo.
13. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 8 a 12, en la que el activador de Nrf2 se selecciona entre fumarato de monometilo, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilo y fumarato de dietilo.
14. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 8 a 13, que comprende 120 mg, 200 mg o 240 mg de fumarato de dimetilo.
15. Una forma de dosificación oral sólida que comprende la composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 8 a 14.
16. Una composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 8 a 14 para su uso en el tratamiento de un trastorno autoinmune y/o inflamatorio, en la que el trastorno autoinmune y/o inflamatorio es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada entre esclerosis múltiple y síndrome clínicamente aislado (CIS).
17. Un kit de partes que comprende a) un agonista de PPAR gamma seleccionado del grupo de glitazonas y b) un activador de Nrf2 seleccionado del grupo de ésteres de ácido fumárico así como estereoisómeros, tautómeros y sales de los mismos, y opcionalmente c) instrucciones para un régimen de dosificación.
18. El kit de piezas de acuerdo con la reivindicación 17, en el que el agonista de PPAR gamma se selecciona entre pioglitazona y su clorhidrato y rosiglitazona y su maleato.
19. El kit de piezas de acuerdo con las reivindicaciones 17 o 18, en el que el activador de Nrf2 es un éster de ácido fumárico seleccionado entre fumarato de dialquilo y fumarato de monoalquilo.

20. El kit de piezas de acuerdo con la reivindicación antes mencionada, en el que el activador de Nrf2 se selecciona entre fumarato de monometilo, fumarato de dimetilo, fumarato de monoetilo y fumarato de dietilo.

21. Un kit de piezas de acuerdo con las reivindicaciones 17 a 20 para su uso en el tratamiento de un trastorno autoinmune y/o inflamatorio, en el que el trastorno autoinmune y/o inflamatorio es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada entre esclerosis múltiple y síndrome clínicamente aislado (CIS).

5

Figura 1





**Figura 2**

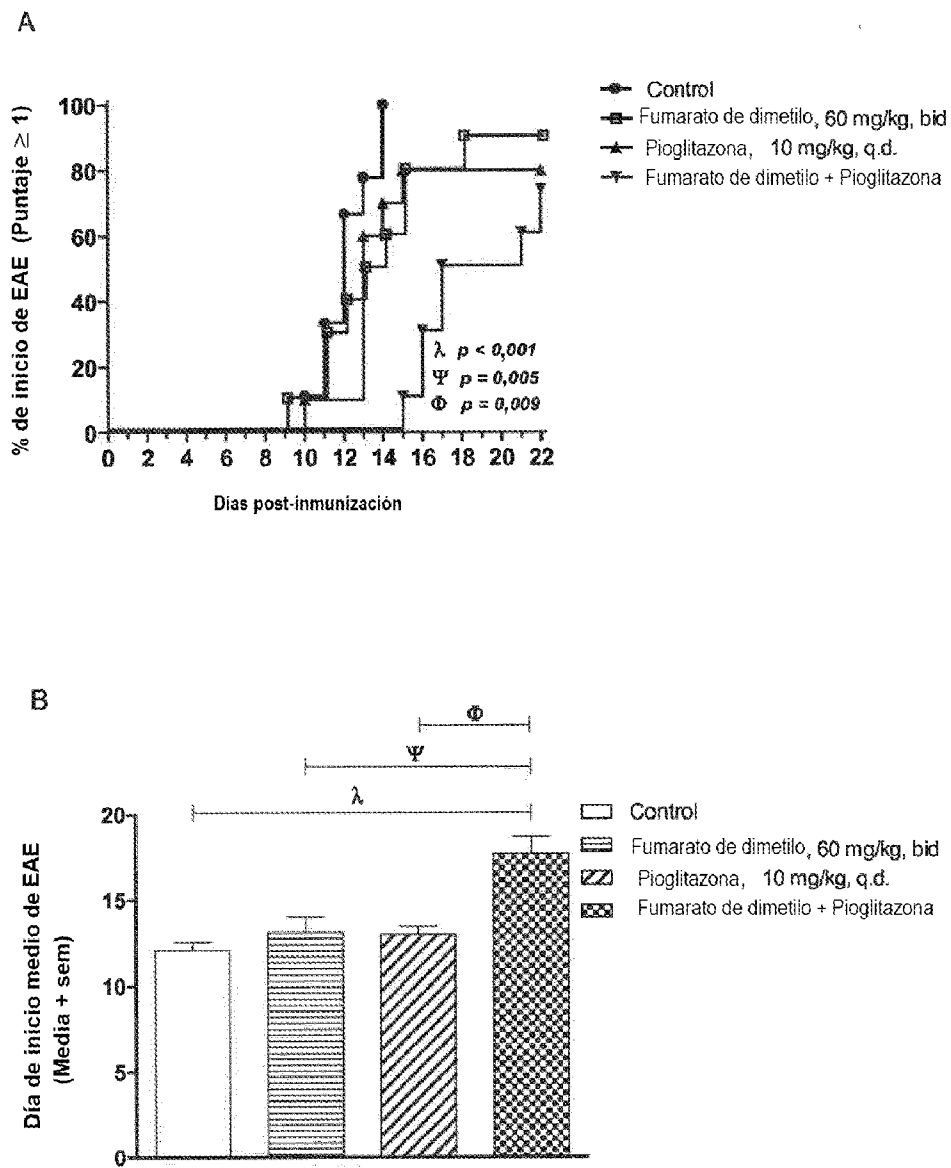


Figura 3

Figura 3A

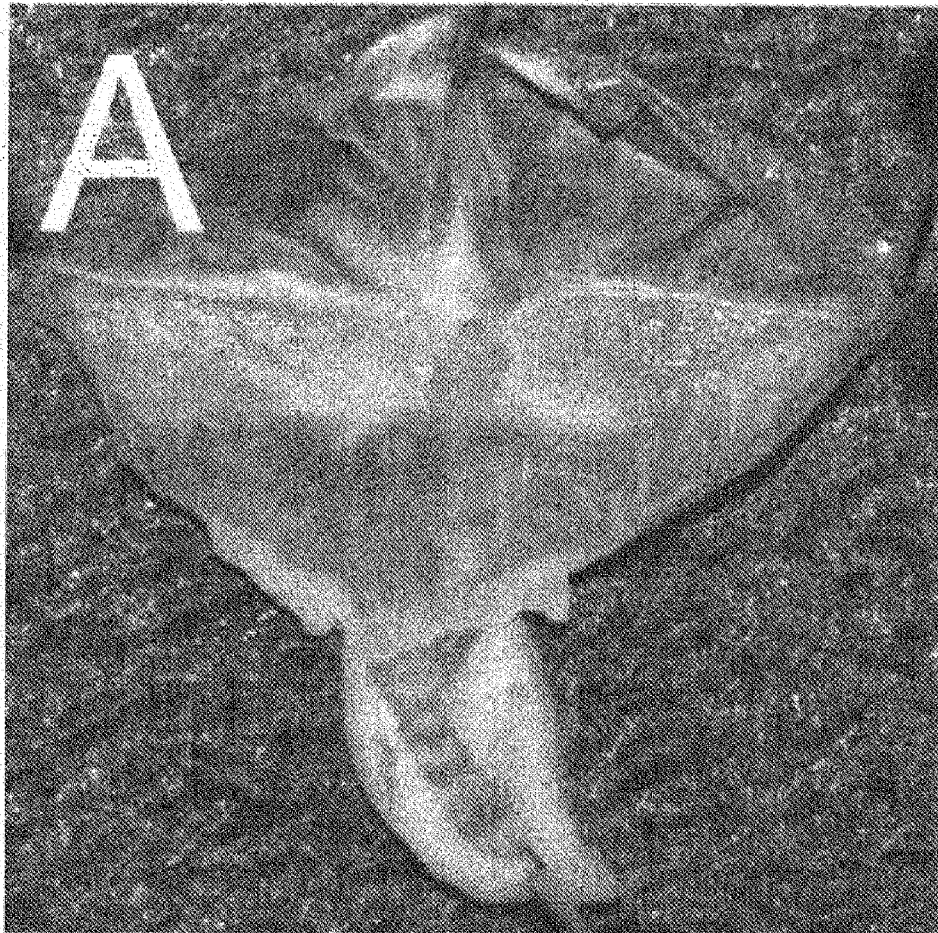


Figura 3B

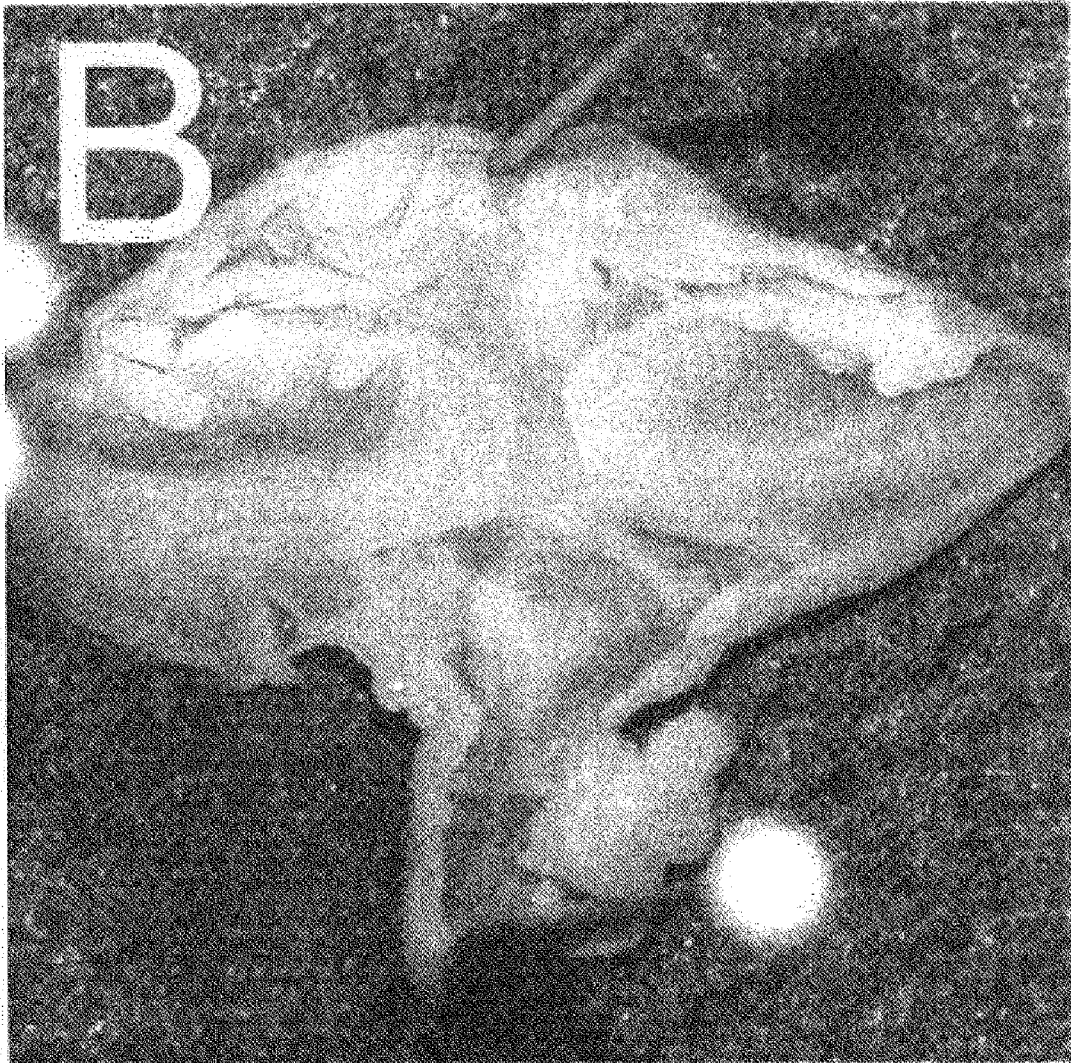


Figura 3C

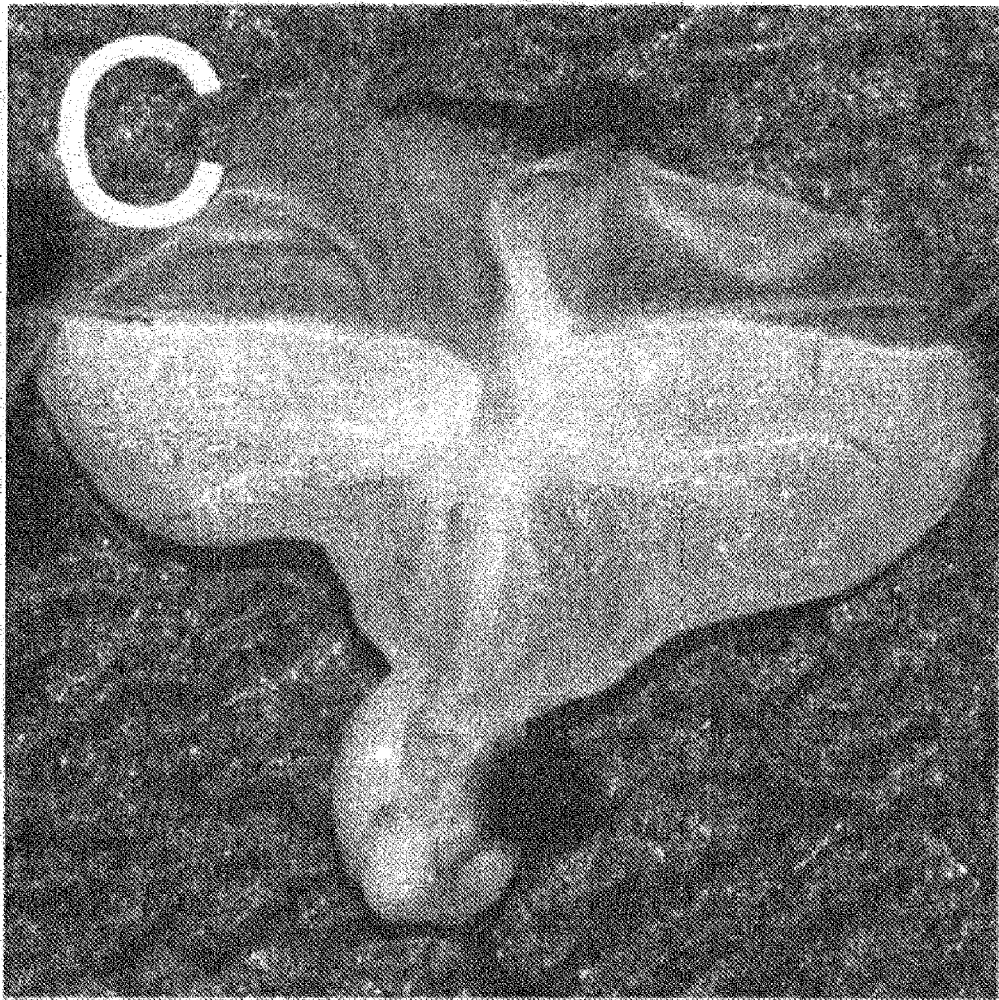


Figura 3D

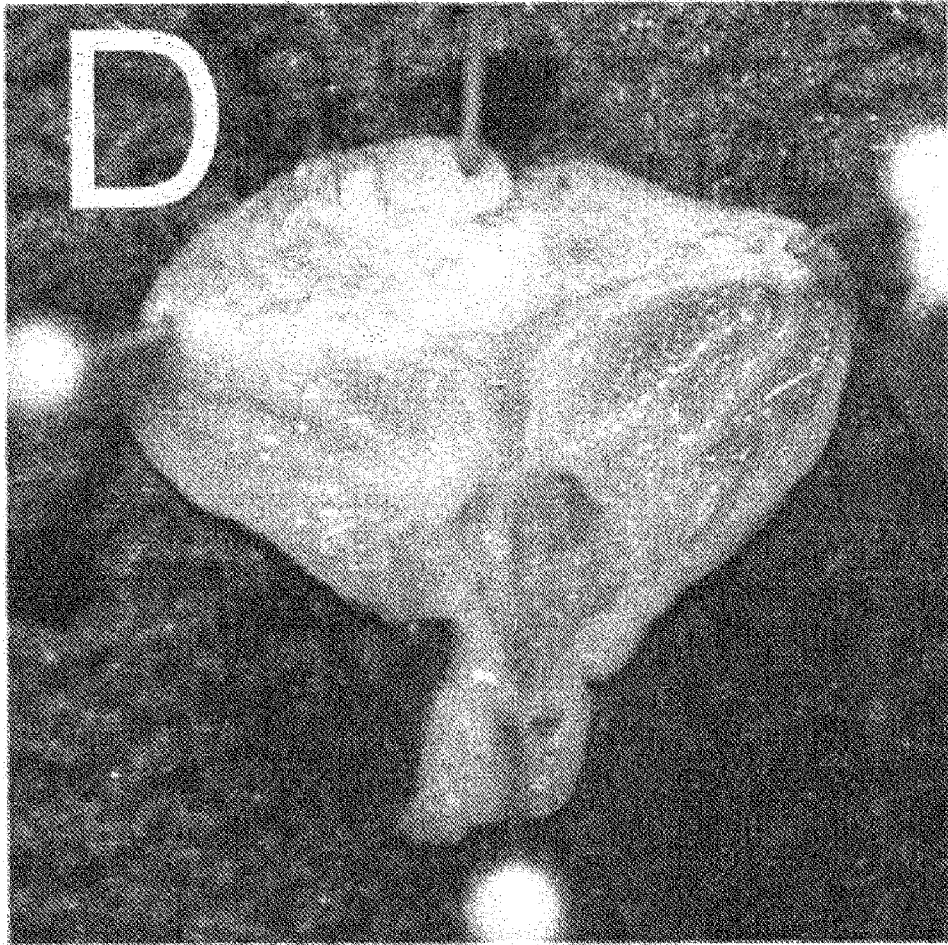




Figura 3E

