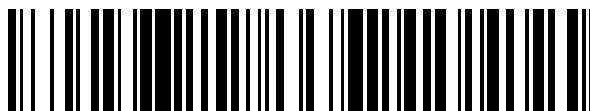


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 763 703**

51 Int. Cl.:

A01N 55/02	(2006.01) A61P 19/02	(2006.01)
A61K 31/555	(2006.01) A61K 9/00	(2006.01)
A61K 31/472	(2006.01)	
A61K 31/4725	(2006.01)	
A61K 38/13	(2006.01)	
A61P 11/00	(2006.01)	
A61P 17/00	(2006.01)	
A61P 17/06	(2006.01)	
A61P 17/14	(2006.01)	
A61P 29/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.04.2009 PCT/US2009/002389**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.10.2009 WO09128934**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2009 E 09733509 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 2265125**

54 Título: **Antagonistas de LFA-1 tópicos utilizados en el tratamiento localizado de trastornos inmunes**

30 Prioridad:

15.04.2008 US 45240

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

29.05.2020

73 Titular/es:

**SARCODE BIOSCIENCE INC. (100.0%)
1000 Marina Blvd., Suite 250
Brisbane, CA 94005 , US**

72 Inventor/es:

**BURNIER, JOHN y
GADEK, THOMAS**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 763 703 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

Antagonistas de LFA-1 tópicos utilizados en el tratamiento localizado de trastornos inmunes

5 **Antecedentes de la invención**

[0001] La familia (CD11/CD18) de moléculas de receptor de adhesión comprende cuatro glicoproteínas de la superficie celular altamente relacionadas; LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18), p150,95 (CD11c/CD18) y (CD11d/CD18). La familia CD11/CD18 está relacionada estructural y genéticamente con la familia de receptores de integrina más grande que modulan las interacciones adhesivas celulares, que incluyen; embriogénesis, adhesión a sustratos extracelulares y diferenciación celular (Hynes, RO, Cell 48: 549-554 (1987); Kishimoto et al., Adv. Immunol. 46: 149-182 (1989); Kishimoto et al., Cell 48: 681-690 (1987); Ruoslahti et al., Science 238: 491-497 (1987)). LFA-1 es una molécula de adhesión heterodimérica presente en la superficie de todos los leucocitos maduros excepto un subconjunto de macrófagos y se considera la principal integrina linfoide. La expresión de Mac-1, p150,95 y CD11d/CD18 se limita principalmente a las células del linaje mieloide (que incluyen neutrófilos, monocitos, macrófagos y mastocitos). Se sabe que LFA-1 y Mac-1 (CD11b/CD18) son de importancia primordial para la función de los leucocitos (Li et al. (2006) Am J Pathology 169: 1590-1600). LFA-1 en particular está involucrado en la migración de leucocitos a sitios de inflamación (Green et al. (2006) Blood 107: 2101-11).

[0002] Los estudios funcionales han sugerido que la LFA-1 interactúa con varios ligandos, incluyendo ICAM-1 (Rothlein et al., J. Immunol. 137: 1270-1274 (1986), ICAM-2, (Staunton et al., Nature 339: 361-364 (1989)), ICAM-3 (Fawcett et al., Nature 360: 481-484 (1992); Vezeux et al., Nature 360: 485-488, (1992); de Fougerolles y Springer, J. Exp. Med. 175: 185-190 (1990)) y Telencephalin (Tian et al., J. Immunol. 158: 928-936 (1997)). La interacción normal de LFA-1 con ICAM actúa como moléculas estimuladoras en el complejo péptido-MHC (Grakoui et al. (1999) Science 285: 221-7; Malissen (1999) Science 285: 207-8). Se sabe que las ICAM 1-3 regulan los linfocitos y la activación de las células T (Perez et al. (2007) BMC Immunol. 8: 2). ICAM-4 es un ligando específico de glóbulos rojos y se sabe que ICAM-5 recluta leucocitos para las neuronas del sistema nervioso central (Ihanus et al. (2007) Blood 109: 802-10; Tian et al. (2000) Eur J Immunol. 30: 810-8). Tras la unión, LFA-1 sufre un cambio conformacional que da como resultado una unión por afinidad más alta y agrupamiento de receptores (Hogg et al. (2003) J Cell Sci. 116: 4695-705; Takagi et al. (2002) Cell 110: 599-611).

[0003] Durante una respuesta inflamatoria, los leucocitos de sangre periférica son reclutados al sitio de inflamación o lesión por una serie de interacciones celulares específicas. La función linfocitaria asociada al antígeno-1 (LFA-1) se ha identificado como la principal integrina que media la adhesión y activación de los linfocitos que conduce a una respuesta inmune normal, así como a varios estados patológicos (Springer, Ta, Nature 346: 425-434 (1990)). La unión de LFA-1 a ICAM media una gama de funciones linfocitarias, incluida la producción de linfocinas de células T auxiliares en respuesta a las células presentadoras de antígeno, lisis de células diana mediadas por linfocitos T, destrucción natural de células tumorales y producción de inmunoglobulinas a través de interacciones de células T-células B. Por lo tanto, muchas facetas de la función linfocitaria implican la interacción de la integrina LFA-1 y sus ligandos ICAM. Estas interacciones mediadas por LFA-1: ICAM se han implicado directamente en numerosos estados de enfermedades inflamatorias que incluyen; rechazo del injerto, dermatitis, psoriasis, asma y artritis reumatoide.

[0004] El documento US 2006/281739 A1 describe compuestos y métodos para el tratamiento de enfermedades mediadas por LFA-1.

[0005] US 2005/267098 A1 da a conocer compuestos, composiciones farmacéuticas de los mismos y métodos para el uso de los mismos para el tratamiento de trastornos mediados por la familia CD11/CD18 de moléculas de adhesión celular.

50 **Sumario de la invención**

[0006] Las realizaciones de la presente invención se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

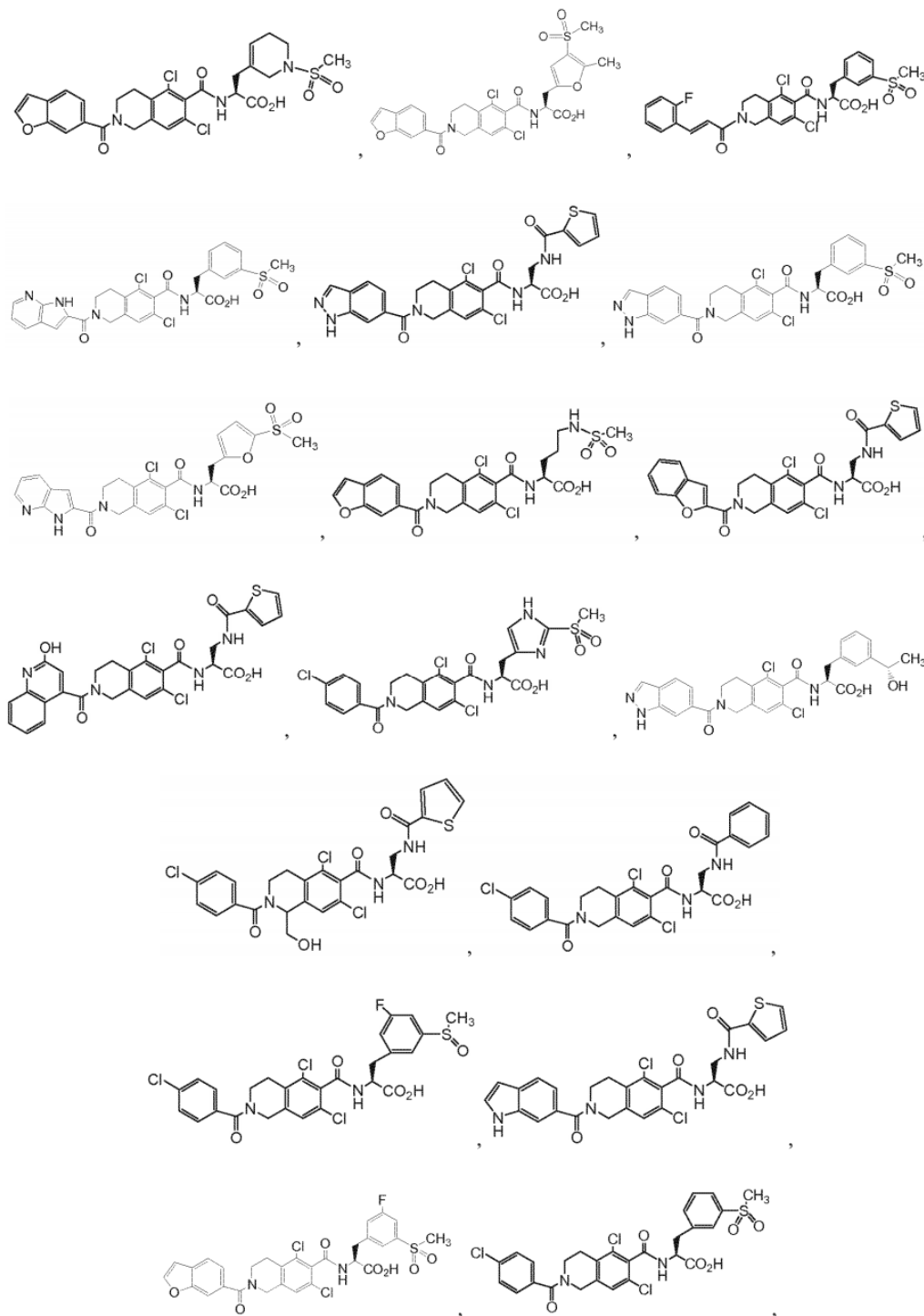
[0007] En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende un antagonista de LFA-1 o una sal farmacéuticamente aceptable o éster de la misma, y un excipiente formulado para la administración tópica a la piel, en donde el antagonista de LFA-1 tiene una tasa de aclaramiento sistémico mayor de aproximadamente 2 ml/min/kg cuando se administra a un sujeto, y en donde la formulación es:

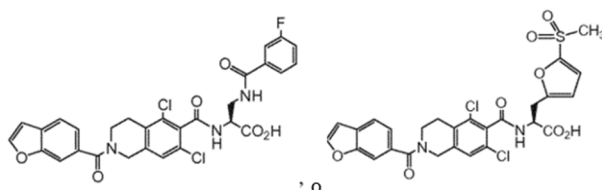
- (a) un gel que comprende aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1; hasta aproximadamente 15% p/v de isosorbida de dimetilo; hasta aproximadamente 25% p/v de transcutol; hasta aproximadamente 1% p/v de hidroxietilcelulosa; hasta aproximadamente 12% p/v de hexilenglicol, hasta aproximadamente 0,15% p/v de metilparabeno; hasta aproximadamente 0,05% p/v de propilparabeno; y agua; o
- (b) una pomada que comprende aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente 10% p/v de isosorbida de dimetilo; hasta aproximadamente 0,02% p/v de hidroxitolueno butilado; hasta aproximadamente 2% p/v Span 80; hasta aproximadamente 10% p/v de cera blanca; y vaselina blanca; o

(c) una loción a base de agua que comprende aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente 15% p/v de isosorbida de dimetilo; hasta aproximadamente 25% p/v de transcutol; hasta aproximadamente 12% p/v de hexilenglicol; hasta aproximadamente 5% p/v de propilenglicol; y pH 6,0 25% de trolamina, en donde la loción está tamponada a un pH de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 7,5;

o
(d) una solución acuosa tamponada a un pH de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,0 con fosfato de sodio, monobásico, que comprende aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente 0,1% p/v EDTA, y, opcionalmente, hasta aproximadamente 0,4% p/p de metilparabeno y hasta aproximadamente 0,02% p/p de propilparabeno;

y en donde el antagonista de LFA-1 comprende un compuesto de una de las siguientes fórmulas y/o una sal o éster farmacéuticamente aceptable de la misma:





[0008] En otro aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica de la invención como se definió anteriormente, para uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio o relacionado con el sistema inmune en un sujeto, en donde el trastorno inflamatorio o relacionado con el sistema inmunitario es psoriasis, irritante dermatitis de contacto, dermatitis eccematosa, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos inmunológicamente mediados, alopecia, alopecia areata, esclerodoma, formación de cicatrices, dermatitis atópica, hidradentis suppurativa, artritis reumatoide, artritis psoriásica o artralgia.

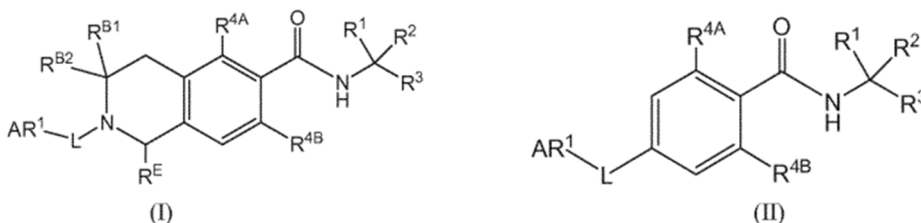
[0009] En un aspecto de la divulgación, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende un antagonista de LFA-1 o una sal farmacéuticamente aceptable o éster de la misma, y un excipiente formulado para administración tópica, en donde el antagonista de LFA-1 tiene una mayor velocidad de aclaramiento sistémico de aproximadamente 2 ml/min/kg cuando se administra a un sujeto.

[0010] En otro aspecto de la divulgación, un método para el tratamiento de un trastorno relacionado con inflamación o inmune en un sujeto se proporciona incluyendo la administración tópica al sujeto en necesidad del mismo una formulación que incluye un antagonista LFA-1 o una sal farmacéuticamente aceptable o éster de la misma, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde el antagonista de LFA-1 tiene una velocidad de depuración sistémica mayor de aproximadamente 2 ml/min/kg cuando se administra a un sujeto. En una realización, después de la administración, el antagonista de LFA-1 está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 1 mm de una superficie epitelial a la que se aplica la formulación y está presente en el plasma sanguíneo por debajo de un nivel terapéuticamente efectivo, dentro de aproximadamente 4 horas después de administración. En otra realización más, después de la administración, el antagonista de LFA-1 está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 1 mm de una superficie epitelial a la que se aplica la formulación y está presente en el plasma sanguíneo por debajo de un nivel terapéuticamente efectivo, dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 10 nM dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración. En diversas realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M y una concentración sistémica medida en plasma de menos de aproximadamente 100 nM, dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración. En algunas realizaciones, la concentración de tejido local del antagonista de LFA-1 se mantiene a más de aproximadamente 10 nM durante al menos aproximadamente 8 horas después de la administración.

[0011] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 es un antagonista directamente competitivo.

[0012] En una realización, el antagonista del LFA-1 alcanza una concentración tisular local de más de aproximadamente 1 μ M dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración a un sujeto. En algunas realizaciones, la concentración de tejido local del antagonista de LFA-1 se mantiene a una concentración mayor de aproximadamente 10 nM durante al menos aproximadamente 8 horas cuando se administra a un sujeto.

[0013] En una realización de la divulgación, el antagonista de LFA-1 comprende un compuesto de Fórmula I o II y/o sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, que tienen las siguientes estructuras:



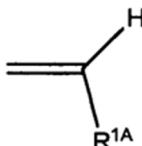
en donde R^1 y R^2 son cada uno independientemente hidrógeno, una cadena lateral de aminoácidos, $-(CH_2)_mOH$, $-(CH_2)_m$ arilo, $-(CH_2)_m$ heteroarilo, en donde m es 0-6, $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$, $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$, U-T-Q o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático o heteroalíclico opcionalmente sustituido con U-T-Q,

en donde U está ausente, $-O-$, $-S(O)_{0-2}-$, $-SO_2N(R^{1A})-$, $-N(R^{1A})-$, $-N(R^{1A})C(=O)-$, $-N(R^{1A})C(=O)-O-$, $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$, $-N(R^{1A})-SO_2-$, $-(=O)-$, $-(=O)-O-$, $-OC(=O)-$, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, $-(=O)-N(R^{1A})-$, $-OC(=O)N(R^{1A})-$, $-(=NR^{1E})-$, $-(=NR^{1E})-O-$, $-(=NR^{1E})-N(R^{1A})-$, $-OC(=NR^{1E})-N(R^{1A})-$, -

$N(R^{1A})C(=NR^{1E})-$, $-N(R^{1A})C(=NR^{1E})-O-$, $-N(R^{1A})C(=NR^{1E})-N(R^{1B})-$, $-P(=O)(OR^{1A})-O-$, o $-P(=O)(R^{1A})-O-$;

T está ausente, un resto alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo; y

Q es hidrógeno, halógeno, ciano, isocianato, $-OR^{1B}$, $-SR^{1B}$, $-N(R^{1B})_2$, $-NHC(=O)OR^{1B}$, $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$, $-NHC(=O)R^{1B}$, $-NHSO_2R^{1B}$, $NHSO_2N(R^{1B})_2$, $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$, $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$, $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$, $C(=O)NHC(=O)R^{1B}$, $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$, $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$, $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$, $C(=S)N(R^{1B})_2$, $-SO_2R^{1B}$, $-SO_2OR^{1B}$, $-SO_2N(R^{1B})_2$, $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$, $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$, $-OC(=O)R^{1B}$, $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$, $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$, $-OSO_2R^{1B}$, o un resto alifático heteroalifático, de arilo o de heteroarilo, o en donde R^1 y R^2 tomados juntos son un resto alicíclico o heterocíclico, o juntos son



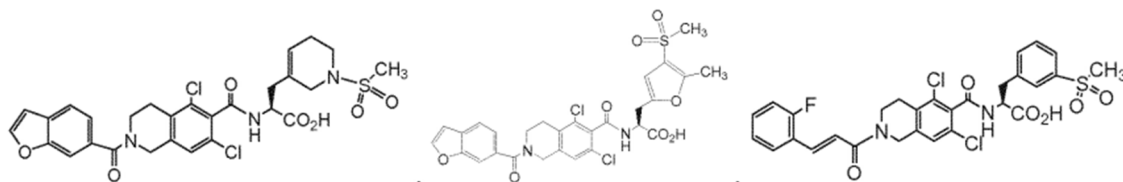
en donde cada aparición de R^{1A} y R^{1B} es independientemente hidrógeno, un arilo alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, arilo, resto heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo, $-(=O)R^{1C}$, o $-(=O)NR^{1C}R^{1D}$; en donde cada aparición de R^{1C} y R^{1D} es independientemente hidrógeno, hidroxilo, o un resto alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo; y R^{1E} es hidrógeno, un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo, $-CN$, $-OR^{1C}$, $-NR^{1C}R^{1D}$ o $-SO_2R^{1C}$;

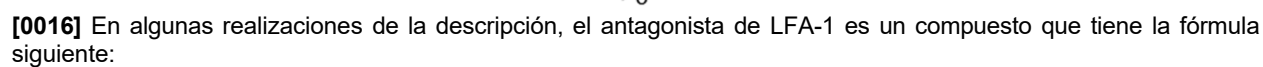
R^3 es $-(=O)OR^{3A}$, $-(=O)H$, $-CH_2OR^{3A}$, $-CH_2OC(=O)-$ alquilo, $-(=O)NH(R^{3A})$, $-CH_2X^0$; en donde cada aparición de R^{3A} es independientemente hidrógeno, un grupo protector, un grupo alifático, alicíclico, heteroalifático, heteroalíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilalil heteroalquilheteroarilo, o sal o éster farmacéuticamente aceptable, o R^{3A} , tomado junto con R^1 y R^2 , forman un resto heterocíclico; en donde X^0 es un halógeno seleccionado de F, Br o I;

en donde R^{4A} y R^{4B} son independientemente un halógeno seleccionado de F, Cl, Br o I; y R^{B1} , R^{B2} y R^E es independientemente hidrógeno o alquilo inferior sustituido o no sustituido.

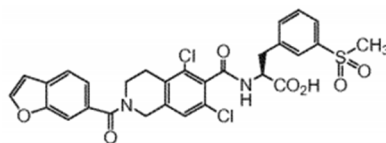
[0014] AR^1 es un arilo monocíclico o policíclico, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, resto alicíclico o heterocíclico; y, L está ausente o es V-W-X-Y-Z, en donde cada aparición de V, W, X, Y y Z está independientemente ausente, $C=O$, NR^{L1} , $-O-$, $-(R^{L1})=$, $=C(R^{L1})-$, $-(R^{L1})(R^{L2})$, $C(=N-O R^{L1})$, $C(=NR^{L1})$, $-N=$, $S(O)_{0-2}$; una cadena de alquienilideno C_{1-6} sustituido o no sustituido o alquienilidina C_{2-6} en donde hasta dos unidades de metileno no adyacentes se reemplazan independientemente opcionalmente por $-C(=O)-$, $-CO_2-$, $-C(=O)C(=O)-$, $-(C=O)NR^{L3}-$, $-OC(=O)-$, $-OC(=O)NR^{L3}-$, $-NR^{L3}NR^{L4}-$, $-NR^{L3}NR^{L4}C(=O)-$, $-NR^{L3}C(=O)-$, $NR^{L3}CO_2-$, $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}-$, $-S(=O)-$, $-SO_2-$, $-NR^{L3}SO_2-$, $-SO_2NR^{L3}-$, $-NR^{L3}SO_2NR^{L4}-$, $-O-$, $-S-$ o $-NR^{L3}-$; en donde cada aparición de R^{L3} y R^{L4} es independientemente hidrógeno, alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo o acilo; o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heteroalíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo; y cada aparición de R^{L1} y R^{L2} es independientemente hidrógeno, hidroxilo, hidroxilo protegido, amino, amino protegido, tio, tio protegido, halógeno, ciano, isocianato, carboxi, carboxialquilo, formilo, formiloxi, azido, nitro, ureido, tioureido, tiocianato, alcoxi, ariloxi, mercapto, sulfonamido, benzamido, tosilo o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heteroalíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo, o en donde una o más ocurrencias de R^{L1} y R^{L2} , tomadas juntas, o tomadas juntas con uno de V, W, X, y o Z puede formar un resto alicíclico o heterocíclico o puede formar un resto arilo o heteroarilo.

[0015] En diversas realizaciones de la descripción, el antagonista de LFA-1 tiene una de las fórmulas siguientes:

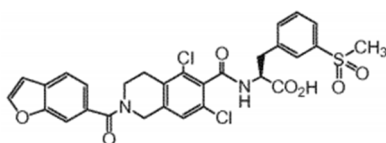




[0017] En otras realizaciones de la descripción, el antagonista de LFA-1 es cualquiera de la Forma A, Forma B, Forma C, Forma D, Forma E, una forma amorfa, o una combinación de las mismas del compuesto que tiene la siguiente fórmula:



[0018] En otras realizaciones más de la descripción, el antagonista de LFA-1 es la forma A del compuesto que tiene la siguiente fórmula:



[0019] En una realización, el antagonista del LFA-1 es una sal de sodio, potasio, litio, magnesio, zinc, o calcio. En una realización, el antagonista de LFA-1 inhibe la unión de las células T a ICAM-1 en aproximadamente un 50% o más a una concentración de aproximadamente 100 nM.

[0020] En algunas realizaciones de la descripción, la formulación está en la forma de un gel, crema, loción, solución, suspensión, emulsión, ungüento, polvo, formas cristalinas, pulverización, espuma, ungüento, pasta, yeso, pintura, nanopartículas de liberación lenta, micropartículas de liberación lenta o bioadhesivas.

[0021] En una realización, el excipiente es agua, solución acuosa tamponada, agente tensioactivo, líquido volátil, almidón, poliol, agente de granulación, microcristalinacelulosa, diluyente, lubricante, ácido, base, sal, emulsión, aceite, agente humectante, agente quelante, antioxidante, solución estéril, agente complejante o agente desintegrante. En una realización, el tensioactivo es ácido oleico, cloruro de cetilpiridinio, lecitina de soja, monolaurato de polioxietileno sorbitán, monoestearato de polioxietileno sorbitán, monooleato de polioxietileno sorbitán, polioxietileno estearilo éter, polioxietileno oleil éter, copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno-etilendiamina, copolímero de bloque de polioxipropileno-polioxietileno o aceite de ricino etoxilato.

[0022] En otras realizaciones, la formulación comprende un potenciador de la penetración tópica. En algunas realizaciones, el potenciador de la penetración tópica es un sulfóxido, éter, tensioactivo, alcohol, ácido graso, éster de ácido graso, poliol, amida, terpeno, alcano o ácido orgánico. En otras realizaciones más, la formulación comprende al menos un agente terapéutico adicional. En otras realizaciones, el agente terapéutico adicional es un antioxidante, agente antiinflamatorio, agente antimicrobiano, agente antiangiogénico, agente antiapoptótico, inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular, agente antiviral, inhibidor de la calcineurina, corticosteroide, inmunomodulador o colirio lubricante. En otras realizaciones más, el agente terapéutico adicional es ciclosporina, rebamipida, diquafasol o gotas lubricantes para los ojos. En algunas realizaciones, la formulación es un gel que comprende aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1; hasta aproximadamente 15% p/v de isosorbida de dimetilo; hasta aproximadamente 25% p/v de transcutoil; hasta aproximadamente 1% p/v de hidroxietilcelulosa; hasta aproximadamente 12% p/v de hexilenglicol, hasta aproximadamente 0,15% p/v de metilparabeno; hasta aproximadamente 0,05% p/v de propilparabeno; y el agua.

[0023] En algunas realizaciones, la formulación es una pomada que comprende alrededor del 1% p/v de un antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente el 10% p/v dimetil isosorbida; hasta aproximadamente 0,02% p/v de hidroxitolueno butilado; hasta aproximadamente 2% p/v Span 80; hasta aproximadamente 10% p/v de cera blanca; y vaselina blanca.

[0024] En diversas realizaciones, la formulación es una loción a base de agua que comprende de aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente 15% p/v de dimetil isosorbida; hasta aproximadamente 25% p/v de transcutoil; hasta aproximadamente 12% p/v de hexilenglicol; hasta aproximadamente 5% p/v de propilenglicol; y pH 6,0 25% de trolamina, en donde la loción está tamponada a un pH de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 7,5.

[0025] En algunas realizaciones, la formulación es una solución acuosa tamponada a un pH de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,0 con fosfato de sodio, monobásico, que comprende de aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente 0,1% p/v de EDTA y opcionalmente, hasta aproximadamente 0,4% p/p de metilparabeno y hasta aproximadamente 0,02% p/p de propilparabeno.

[0026] En una realización, el antagonista del LFA-1 es la forma A del compuesto.

[0027] En otras realizaciones, el antagonista del LFA-1 inhibe la unión de las células T a ICAM-1 en un 50% o más a

una concentración de aproximadamente 100 nM.

[0028] En algunas realizaciones, la formulación se aplica tópicamente a la piel, los ojos, la boca, la nariz, la mucosa vaginal, o mucosa anal. En una realización de la divulgación, la formulación está en forma de gel, crema, loción, solución, suspensión, emulsión, pomada, polvo, formas cristalinas, aerosol, espuma, ungüento, pasta, yeso, pintura, nanopartículas de liberación lenta, micropartículas de liberación lenta o bioadhesivas. En aún otra realización, la formulación comprende un tensioactivo que es ácido oleico, cloruro de cetilpiridinio, lecitina de soja, monolaurato de sorbitán polioxietileno, monoestearato de polioxietileno sorbitán, monooleato de polioxietileno sorbitán, polioxietileno estearilo éter, polioxietileno oleil éter, copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno-etilendiamina, copolímero de bloque de polioxipropileno-polioxietileno o etoxilato de aceite de ricino.

[0029] En otras realizaciones, el método comprende un potenciador de penetración tópica. En una realización, el potenciador tópico de penetración es un sulfóxido, éter, tensioactivo, alcohol, ácido graso, éster de ácido graso, poliol, amida, terpeno, alcano o ácido orgánico.

[0030] En algunas realizaciones, la formulación comprende al menos un agente terapéutico adicional. En una realización, el agente terapéutico adicional es un antioxidante, agente antiinflamatorio, agente antimicrobiano, agente antiangiogénico, agente antiapoptótico, inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular o agente antiviral.

[0031] En otras realizaciones más, la formulación se administra en una dosis de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg. En diversas realizaciones de la divulgación, el trastorno inflamatorio o inmune es la inflamación intraocular, inflamación periocular, inflamación de la superficie ocular, queratoconjuntivitis, queratoconjuntivitis seca (KCS, también conocido como ojo seco), KCS en pacientes con síndrome de Sjogren, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), conjuntivitis alérgica, uveítis, inflamación del ojo por el uso de lentes de contacto, inflamación de la córnea por el uso de lentes de contacto, inflamación del tejido periocular por el uso de lentes de contacto, inflamación del ojo después de la cirugía, inflamación intraocular, retinitis, edema, retinopatía, inflamación corneal, enfermedad de Graves (enfermedad de Basedow) u oftalmopatía de Graves.

[0033] En otras realizaciones de la descripción, el trastorno inflamatorio o inmune es la psoriasis, contacto irritante dermatitis, dermatitis eccematosa, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos mediados inmunológicamente, alopecia, alopecia areata, el síndrome de dificultad respiratoria del adulto, fibrosis pulmonar, esclerodoma, formación de cicatrices, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), dermatitis atópica, inflamación del trasplante de riñón, asma, hidradentis suppurativa, artritis reumatoide, artritis psoriásica, síndrome de Sjogren, uveítis, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), liquen plano oral, artralgia o inflamación del trasplante de células de los islotes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0034] Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención haciendo referencia a la siguiente descripción detallada que establece realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención, y los dibujos adjuntos, de los cuales:

La Figura 1 muestra los resultados de un ensayo de inhibición de la adhesión de linfocitos y un ensayo de liberación de IL-2. Para el ensayo de inhibición, se calcularon los valores de CE50 para la inhibición de la unión entre las células T Jurkat y la ICAM-1 inmovilizada. Para el ensayo de liberación de IL-2, se calcularon los valores de CE50 para la inhibición de la producción de IL-2 a partir de células mononucleares de sangre periférica después de la adición del antígeno de estafilo enterotoxina B. Esto se realizó en presencia de suero humano al 10%. Los compuestos de las estructuras N° 5, 7, 9, 13, 15, 17, 19, 20, 23, 25, 27, 28, 30, 31, 34, 35, 38, 41, 44 y 48 se refieren a la invención. Los compuestos restantes se proporcionan como ejemplos de referencia.

La Figura 2 es una representación gráfica de la evaluación histopatológica de las biopsias tomadas antes y después del tratamiento de un ojo de perro con el Compuesto 12.

La Figura 3 ilustra el cambio medio en la puntuación de la prueba de Schirmer en las semanas 2, 4, 8 y 12 para ojos en perros tratados con Compuesto 12.

La Figura 4 ilustra el porcentaje de ojos de perro con una puntuación de prueba de Schirmer de más de 10 mm a las 2, 4, 8 y 12 semanas con una formulación de Compuesto 12 al 1% (TID; tres veces al día).

La Figura 5 ilustra el porcentaje de ojos con una mejora de más de 4 mm en la puntuación de la prueba de Schirmer a las 2, 4, 12, 16 y 26 semanas para los sujetos tratados con una formulación de Compuesto 12 al 1% (TID) en comparación con los resultados de la literatura para el 2% CsA (BID; dos veces al día).

La Figura 6 ilustra un intervalo de tiempo de los niveles plasmáticos medios del tratamiento del Compuesto 12 (humano) con 5% de Compuesto 12.

La Figura 7 ilustra los niveles de C_{min} de lágrima para sujetos humanos tratados con 1% de Compuesto 12 QD (una vez al día).

La Figura 8 ilustra la relación de nivel de lágrimas C_{max} de dosis/fármaco para la administración del Compuesto 12 en humanos (QD y TID).

La Figura 9 ilustra la relación nivel de lágrima C_{max} de dosis/AUC y dosis/media para sujetos humanos tratados QD con Compuesto 12.

La Figura 10 es una representación gráfica de una autorradiografía de cuerpo entero para un animal Sprague Dawley macho 0,5 horas después de una única administración ocular tópica de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo).

La Figura 11 es una representación gráfica de una autorradiografía de cuerpo completo para un animal Sprague Dawley macho 2 horas después de una administración ocular tópica única de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo).

La Figura 12 es una representación gráfica de una autorradiografía de cuerpo entero para un animal Sprague Dawley macho 8 horas después de una administración ocular tópica única de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo).

La Figura 13 es una representación gráfica de una autorradiografía de cuerpo completo para un animal Sprague Dawley macho 12 horas después de una administración ocular tópica única de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo).

La Figura 14 es una representación gráfica de una autorradiografía de cuerpo entero para un animal Sprague Dawley macho 24 horas después de una administración ocular tópica única de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo).

La Figura 15 ilustra la farmacocinética ocular de rata de [^{14}C]-Compuesto 12.

La Figura 16 ilustra la farmacocinética ocular de perro de [^{14}C]-Compuesto 12.

La Figura 17 es una representación gráfica del intervalo de tiempo de los niveles plasmáticos del fármaco para el Compuesto 12 después de dosis IV únicas en ratas.

La Figura 18 es una representación gráfica de la secuencia temporal de los niveles plasmáticos del fármaco para el Compuesto 12 después de dosis IV únicas en perros.

La Figura 19 ilustra la relación dosis/fármaco AUC (en lágrimas) para el Compuesto 12 administrado a perros.

La Figura 20 ilustra los perfiles de concentración de lágrimas de fármaco del Compuesto 12 medidos después de 13 semanas de dosificación ocular de TID en conejos.

La Figura 21 ilustra los perfiles de concentración de lágrimas de fármaco del Compuesto 12 medidos después de 13 semanas de dosificación ocular de TID en perros.

La Figura 22 ilustra las concentraciones medias de lágrimas de drogas en ojos derecho e izquierdo de conejos después de la instilación tópica de una dosis única del compuesto 12.

La Figura 23 ilustra el nivel de fármaco en plasma en ratas para diversas aplicaciones tópicas del compuesto 12.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0035] Si bien las realizaciones preferidas de la presente invención se han mostrado y descrito en el presente documento, será obvio para los expertos en la materia que tales realizaciones se proporcionan solo a modo de ejemplo. Ahora se les ocurrirán numerosas variaciones, cambios y sustituciones a los expertos en la técnica sin apartarse de la invención. Debe entenderse que pueden emplearse diversas alternativas a las realizaciones de la invención descritas en la presente memoria en la práctica de la invención. Se pretende que las reivindicaciones adjuntas definan el alcance de la invención.

[0036] A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

[0037] Tal como se utiliza en la especificación y las reivindicaciones, la forma singular "un", "una", "el" y "ella" incluye referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

[0038] Como se usa en la presente memoria, "agente" o "agente biológicamente activo" se refiere a un compuesto biológico, farmacéutico, o químico u otro resto. Los ejemplos no limitantes incluyen una molécula orgánica o inorgánica simple o compleja, un péptido, una proteína, un oligonucleótido, un anticuerpo, un derivado de anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un derivado de vitamina, un carbohidrato, una toxina o un compuesto quimioterapéutico. Se sintetizan diversos compuestos, por ejemplo, pequeñas moléculas y oligómeros (por ejemplo, oligopéptidos y oligonucleótidos) y compuestos orgánicos sintéticos basados en diversas estructuras centrales. Además, varias fuentes naturales pueden proporcionar compuestos para el cribado, como extractos de plantas o animales. Un experto en la materia puede reconocer fácilmente que no hay límite en cuanto a la naturaleza estructural de los agentes de la presente invención.

[0039] El término "agonista" como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto que tiene la capacidad de iniciar o mejorar una función biológica de una proteína diana, ya sea mediante la inhibición de la actividad o expresión de la proteína diana. En consecuencia, el término "agonista" se define en el contexto del papel biológico del polipéptido diana. Si bien los agonistas preferidos en el presente documento interactúan específicamente con (por ejemplo, se unen) a la diana, los compuestos que inician o mejoran una actividad biológica del polipéptido diana al interactuar con otros miembros de la ruta de transducción de señales de la que es miembro el polipéptido diana también se incluyen específicamente dentro de esta definición.

[0040] Los términos "antagonista" e "inhibidor" se utilizan indistintamente, y se refieren a un compuesto que tiene la capacidad de inhibir una función biológica de una proteína diana, ya sea mediante la inhibición de la actividad o

expresión de la proteína diana. Por consiguiente, los términos "antagonista" e "inhibidores" se definen en el contexto del papel biológico de la proteína diana. Si bien los antagonistas preferidos en el presente documento interactúan específicamente con (por ejemplo, se unen) a la diana, los compuestos que inhiben una actividad biológica de la proteína diana al interactuar con otros miembros de la ruta de transducción de señales de la que es miembro la proteína diana también se incluyen específicamente en esta definición. Una actividad biológica preferida inhibida por un antagonista de LFA-1, por ejemplo, está asociada con una respuesta inflamatoria o inmune no deseada como se manifiesta en enfermedad inflamatoria o autoinmune, respectivamente.

[0041] Un "inhibidor directamente competitivo" o "antagonista directamente competitivo" se refiere a un ligando, que incluye biomoléculas, péptidos y pequeñas moléculas orgánicas sintéticas, que se une directamente al sitio activo de la molécula diana biológica, y evita directamente un sustrato de vincularse a ella. Por ejemplo, un inhibidor directamente competitivo de la interacción de LFA-1 e ICAM-1, se une a LFA-1 en el sitio donde se une ICAM-1, y por lo tanto evita directamente que se una ICAM-1.

[0042] "Inhibidor alostérico" tal como se utiliza aquí, se refiere a un ligando que incluye biomoléculas, péptidos y moléculas sintéticas pequeñas orgánicas, que se une a una molécula diana biológica en un sitio distinto del sitio de unión de la interacción que está inhibida. La interacción cambia la forma de la molécula diana biológica para interrumpir el complejo habitual entre la molécula diana biológica y su sustrato. Esto da como resultado la inhibición de la actividad normal de dicha formación compleja. Por ejemplo, un inhibidor alostérico de la interacción de LFA-1 e ICAM-1, se une a LFA-1 en un sitio diferente al que se une ICAM-1, pero interrumpe el sitio de unión de ICAM-1 de tal manera que se reduce la interacción de LFA-1 e ICAM-1.

[0043] El término "inhibición selectiva" o "inhibir selectivamente" tal como se aplica a un agente biológicamente activo se refiere a la capacidad del agente de reducir selectivamente la actividad de señalización de destino, en comparación con la actividad de señalización fuera de diana, mediante interacción directa o indirecta con la diana.

[0044] "Th1" y "Th2", como se usa en este documento, hacen referencia a células T auxiliares que se encuentran en dos tipos de células distintas, Th1 y Th2, que se distinguen por las citocinas que producen y responden y las respuestas inmunes en las que están involucradas. Las células Th1 producen citocinas proinflamatorias como IFN- γ , TNF- β e IL-2, mientras que las células Th2 producen las citocinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13.

[0045] Un "agente anti-tumor", "agente anti-cáncer" o "agente quimioterapéutico" se refiere a cualquier agente útil en el tratamiento de una condición neoplásica. Una clase de agentes anticancerígenos comprende agentes quimioterapéuticos. "Quimioterapia" significa la administración de uno o más fármacos quimioterapéuticos y/u otros agentes a un paciente con cáncer por diversos métodos, incluidos los intravenosos, orales, intramusculares, intraperitoneales, intravesicales, subcutáneos, transdérmicos, bucales o por inhalación o en forma de supositorio.

[0046] El término "proliferación celular" se refiere a un fenómeno por el cual el número de células ha cambiado como resultado de la división. Este término también abarca el crecimiento celular por el cual la morfología celular ha cambiado (por ejemplo, aumentado de tamaño) de manera consistente con una señal proliferativa.

[0047] El término "co-administración", "administrado en combinación con", y sus equivalentes gramaticales, como se usa en el presente documento, abarca la administración de dos o más agentes a un animal de modo que ambos agentes y/o sus metabolitos están presentes en el animal al mismo tiempo. La administración conjunta incluye la administración simultánea en composiciones separadas, la administración en diferentes momentos en composiciones separadas o la administración en una composición en donde ambos agentes están presentes.

[0048] El término "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a aquella cantidad de un compuesto descrito en este documento que es suficiente para efectuar la aplicación pretendida incluyendo pero no limitado al tratamiento de enfermedades, como se define a continuación. La cantidad terapéuticamente efectiva puede variar según la aplicación prevista (*in vitro* o *in vivo*), o el sujeto y la condición de la enfermedad que se está tratando, por ejemplo, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la enfermedad y la forma de administración, que puede determinar fácilmente un experto en la materia. El término también se aplica a una dosis que inducirá una respuesta particular en las células diana, por ejemplo, la reducción de la adhesión de plaquetas y/o la migración celular. La dosis específica variará según los compuestos particulares elegidos, el régimen de dosificación a seguir, si se administra en combinación con otros compuestos, el momento de la administración, el tejido al que se administra y el sistema de administración física en donde se lleva.

[0049] Como se usa en el presente documento, "tratamiento" o "tratar", o "paliar" o "mejorar" se usan indistintamente en este documento. Estos términos se refieren a un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados que incluyen pero no se limitan a un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Por beneficio terapéutico se entiende la erradicación o mejora del trastorno subyacente que se está tratando. Además, se logra un beneficio terapéutico con la erradicación o mejora de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados con el trastorno subyacente, de modo que se observa una mejora en el paciente, a pesar de que el paciente todavía puede estar afectado por el trastorno subyacente. Para beneficio profiláctico, las composiciones pueden administrarse a un paciente con riesgo de desarrollar una enfermedad particular, o a un paciente que informa uno o más de los síntomas fisiológicos de una

enfermedad, aunque no se haya hecho un diagnóstico de esta enfermedad. Las composiciones pueden administrarse a un sujeto para prevenir la progresión de síntomas fisiológicos o para prevenir la progresión del trastorno subyacente.

[0050] Un "efecto terapéutico", como se usa ese término en este documento, abarca un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico como se describe arriba. Un efecto profiláctico incluye retrasar o eliminar la aparición de una enfermedad o afección, retrasar o eliminar la aparición de síntomas de una enfermedad o afección, retrasar, detener o revertir la progresión de una enfermedad o afección, o cualquier combinación de las mismas.

[0051] Tal como se utiliza aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que son adecuadas para uso farmacéutico, preferiblemente para su uso en los tejidos de humanos y animales inferiores sin irritación indebida, y respuesta alérgica. Las sales farmacéuticamente aceptables de aminas, ácidos carboxílicos y otros tipos de compuestos son bien conocidas en el documento. Por ejemplo, SM Berge, et al., describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977). Las sales pueden prepararse in situ durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos de la descripción, o por separado haciendo reaccionar una base libre o una función de ácido libre con un reactivo adecuado, como se describe generalmente a continuación. Por ejemplo, una función de base libre puede hacerse reaccionar con un ácido adecuado. Además, cuando los compuestos de la divulgación portan un resto ácido, las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los mismos pueden incluir sales metálicas tales como sales de metales alcalinos, por ejemplo sales de sodio o potasio; y sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio o magnesio. Ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formado con ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o mediante el uso de otros métodos utilizados en la técnica, como el intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hexanoato, hemisano, hidroanoato, hemisano, hemisferio, hexanoato, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, sales de estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato y valerato. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio y magnesio. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea apropiado, cationes de amonio no tóxico, amonio cuaternario y amina formados por reacción directa con el fármaco ácido carboxílico o mediante el uso de contraiones como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato y aril sulfonato.

[0052] "Vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas de la invención. Los ingredientes activos suplementarios también se pueden incorporar en las composiciones.

[0053] "Profármaco" pretende indicar un compuesto que se puede convertir bajo condiciones fisiológicas o por solvolisis en un compuesto biológicamente activo descrito en este documento. Por lo tanto, el término "profármaco" se refiere a un precursor de un compuesto biológicamente activo que es farmacéuticamente aceptable. Un profármaco puede estar inactivo cuando se administra a un sujeto, es decir, un éster, pero se convierte *in vivo* en un compuesto activo, por ejemplo, por hidrólisis en el ácido carboxílico libre. El compuesto profármaco a menudo ofrece ventajas de solubilidad, compatibilidad tisular o liberación retardada en un organismo mamífero (véase, por ejemplo, Bundgard, H., Design of Prodrugs (1985), pp. 7-9, 21-24 (Elsevier, Amsterdam). Se proporciona una discusión sobre los profármacos en Higuchi, T., et al., "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", ACS Symposium Series, Vol. 14, y en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987. El término "profármaco" también incluye cualquier vehículo unido covalentemente, que libera el compuesto activo in vivo cuando dicho profármaco se administra a un sujeto mamífero. Los profármacos de un compuesto activo, como se describe en el presente documento, puede prepararse modificando grupos funcionales presentes en el compuesto activo de tal manera que las modificaciones se escindan, ya sea en manipulación rutinaria o in vivo, al compuesto activo original. Los profármacos incluyen compuestos en los que un grupo hidroxilo, amino o mercapto está unido a cualquier grupo que, cuando el profármaco del compuesto activo se administra a un sujeto mamífero, se escinde para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre o mercapto libre, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados de acetato, formiato y benzoato de un alcohol o acetamida, derivados de formamida y benzamida de un grupo funcional de amina en el compuesto activo.

[0054] "Tratamiento localizado" tal como se utiliza aquí, se refiere al tratamiento de un trastorno inmune o inflamatorio en donde el fármaco se administra localmente y no se entrega a través suministro sistémico. Esto puede incluir muchas áreas locales diferentes o algunas áreas locales diferentes dentro, por ejemplo, del tracto gastrointestinal al que se administra el fármaco a la mucosa gastrointestinal desde dentro de la luz del tracto GI. Otro ejemplo es el tratamiento de la piel, en donde el fármaco se puede aplicar a muchas ubicaciones diferentes o a algunas ubicaciones diferentes en la piel, y en donde el fármaco se administra a los tejidos dentro y adyacentes a la piel mediante absorción a través

de la piel. Alternativamente, el fármaco puede administrarse mediante supositorios a la mucosa anal y absorberse a través de las superficies epiteliales al tejido dentro y adyacente a la mucosa del tracto gastrointestinal inferior.

[0055] "Administración local" tal como se utiliza aquí se refiere a un compuesto de fármaco que se lleva al sitio de uso terapéutico. Incluye, por ejemplo, aplicar una formulación directamente al área de la piel que se está tratando, rociar una formulación en un área de la piel a tratar, rociar o inhalar una formulación por vía intranasal para administrar el medicamento a las fosas nasales, o instilar gotas para los ojos en un ojo para tratar el ojo. En la presente invención, el "suministro local" también abarca la administración oral o nasal de una formulación que se lleva al tracto gastrointestinal, en donde el fármaco se pone en contacto con la mucosa gastrointestinal, donde el fármaco se absorbe en el tejido circundante y ejerce un efecto terapéutico, sin ser administrado directamente a ese sitio desde el sistema circulatorio de la sangre.

[0056] "Concentración tisular local" como se usa aquí, se refiere a la concentración de LFA-1 antagonista dentro del área de tejido a la que el antagonista de LFA-1 se ha entregado y absorbido.

[0057] "Sujeto" se refiere a un animal, tal como un mamífero, por ejemplo un ser humano. Los métodos descritos aquí pueden ser útiles tanto en terapéutica humana como en aplicaciones veterinarias. En algunas formas de realización, el paciente es un mamífero, y en algunas formas de realización, el paciente es humano.

[0058] El término "*in vivo*" se refiere a un evento que tiene lugar en el cuerpo de un sujeto.

[0059] El término "*in vitro*" se refiere a un evento que tiene lugar fuera del cuerpo de un sujeto. Por ejemplo, un ensayo *in vitro* abarca cualquier ensayo realizado fuera de un ensayo sujeto. Los ensayos *in vitro* abarcan ensayos basados en células en los que se emplean células vivas o muertas. Los ensayos *in vitro* también incluyen un ensayo sin células en donde no se emplean células intactas.

[0060] A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las estructuras actuales, excepto la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C están dentro del alcance de esta invención.

[0061] Los compuestos de la presente descripción también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden estar radiomarcados con isótopos radiactivos, como por ejemplo tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente divulgación, sean radiactivas o no, están incluidas dentro del alcance de la presente divulgación.

[0062] Cuando los intervalos se usan en el presente documento para propiedades físicas, tales como peso molecular, o propiedades químicas, tales como fórmulas químicas, se pretende que se incluyan todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y realizaciones específicas. El término "aproximadamente" cuando se refiere a un número o un rango numérico significa que el número o rango numérico al que se hace referencia es una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o dentro del error estadístico experimental) y, por lo tanto, el número o rango numérico puede variar, por ejemplo, entre 1% y 15% del número o rango numérico establecido. El término "que comprende" (y términos relacionados tales como "comprende" o "que comprende" o "que tiene" o "incluye") incluye aquellas realizaciones, por ejemplo, una realización de cualquier composición de materia, composición, método o proceso, que "consiste en" o "consiste esencialmente en" las características descritas.

[0063] Las abreviaturas utilizadas en el presente documento tienen su significado convencional dentro de las técnicas químicas y biológicas.

[0064] El término "alifático", como se usa en el presente documento, incluye hidrocarburos alifáticos tanto saturados como insaturados, de cadena lineal (no ramificados) o ramificados, que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. Como apreciará un experto en la materia, "alifático" pretende incluir, pero no se limita a, alquilo, alqueno, restos alquilo. Así, como se usa en el presente documento, el término "alquilo" incluye grupos alquilo lineales y ramificados. Una convención análoga se aplica a otros términos genéricos tales como "alqueno" y "alquilo".

[0065] Además, como se usa en el presente documento, los términos "alquilo", "alqueno" y "alquilo" abarcan grupos tanto sustituidos como no sustituidos. En ciertas realizaciones, como se usa en el presente documento, "alquilo inferior" se usa para indicar aquellos grupos alquilo (sustituidos, no sustituidos, ramificados o no ramificados) que tienen aproximadamente 1-6 átomos de carbono.

[0066] En ciertas realizaciones, los grupos alquilo, alqueno y alquilo empleados en la divulgación contienen aproximadamente 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas otras realizaciones, los grupos alquilo, alqueno y alquilo empleados en la descripción contienen aproximadamente 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, los grupos alquilo, alqueno y alquilo empleados en la descripción contienen aproximadamente

1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, los grupos alquilo, alqueno y alquino empleados en la descripción contienen aproximadamente 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, los grupos alquilo, alqueno y alquino empleados en la descripción contienen aproximadamente 1-4 átomos de carbono. Los grupos alifáticos ilustrativos incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, alilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, sec-pentilo, isopentilo, terc-pentilo, n-hexilo y restos de sec-hexilo, que de nuevo, pueden tener uno o más sustituyentes.

[0067] Los grupos alqueno incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, etenilo, propenilo, y butenilo. Los grupos alquino representativos incluyen, pero no se limitan a, etinilo y 2-propinilo.

[0068] El término "alquino inferior" como se utiliza aquí se refiere a una cadena hidrocarbonada que une juntos otros dos grupos, es decir, está unido a otro grupo en cada extremo, por ejemplo metileno, etileno, y butileno. Tal sustituyente es preferiblemente de 1 a 10 carbonos y más preferiblemente de 1 a 5 carbonos. Dichos grupos pueden estar sustituidos, preferiblemente con un grupo amino, acetilamino (un grupo alquilcarbonilo inferior unido mediante un átomo de nitrógeno) o un grupo cicloalquilo inferior. Por este último se entiende un anillo de hidrocarburo saturado, preferiblemente con un total de 3 a 10 metilenos (incluidos los carbonos de unión), más preferiblemente de 3 a 6.

[0069] El término "alíclico", como se usa aquí, se refiere a compuestos que combinan las propiedades de los compuestos alifáticos y cíclicos e incluyen, pero no se limitan a sistemas anulares monocíclicos, o hidrocarburos alifáticos policíclicos y compuestos puenteados cicloalquilo, que están opcionalmente sustituidos con uno o Grupos más funcionales.

[0070] Como será apreciado por un experto ordinario en la técnica, "alíclico" se pretende en el presente documento para incluir, pero no se limita a, cicloalquilo, cicloalqueno, y restos cicloalquino, que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales.

[0071] Por lo tanto grupos alíclicos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, ciclopropilo, -CH₂-ciclopropil, ciclobutil, -CH₂-ciclobutil, ciclopentil, -CH₂-ciclopentilo, ciclohexilo, -CH₂-ciclohexil, restos ciclohexeniletilo, ciclohexaniletilo y norbornilo, que nuevamente pueden tener uno o más sustituyentes.

[0072] El término "alcoxi" o "alquiloxi", como se usa aquí, se refiere a un resto molecular padre saturado o insaturado a través de un átomo de oxígeno. En ciertas realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, el grupo alquilo empleado en la descripción contiene aproximadamente 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los ejemplos de alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, isopropoxi, n-butoxi, i-butoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, neopentoxi y n-hexloxi.

[0073] El término "alcoxi inferior" tal como se utiliza aquí se refiere a un alquilo inferior como se definió anteriormente que puede estar ramificado o no ramificado como también se ha definido anteriormente y que está unido por un átomo de oxígeno a otro grupo (es decir, éteres de alquilo).

[0074] El término "alquilamino" se refiere a un grupo que tiene la estructura -NHR' en donde R' es alquilo, como se define aquí. El término "aminoalquilo" se refiere a un grupo que tiene la estructura NH₂R', como se define aquí. En ciertas realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, el grupo alquilo empleado en la descripción contiene aproximadamente átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los ejemplos de alquilamino incluyen, pero no se limitan a, metilamino.

[0075] Algunos ejemplos de sustituyentes de la serie alifática descrita anteriormente (y otros) restos de los compuestos de la divulgación incluyen, pero no se limitan a alifático; alíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; heteroalquilarilo; alquilheteroarilo; heteroalquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; R_x independientemente incluye, pero no se limita a, alifático, alíclico, heteroalifático, heterocíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilarilo o heteroalquilheteroarilo, donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilarilo, o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado, saturado o insaturado, y en donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento puede estar sustituido o no sustituido. Ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

[0076] En general, el término "resto aromático", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto mono o policíclico, insaturado estable que tiene preferiblemente 3-14 átomos de carbono, cada uno de los cuales puede estar

sustituido o no sustituido. En ciertas realizaciones, el término "resto aromático" se refiere a un anillo plano que tiene orbitales p perpendiculares al plano del anillo en cada átomo del anillo y que cumple la regla de Huckel donde el número de electrones pi en el anillo es $(4n+2)$ en donde n es un número entero. Un resto insaturado mono o policíclico que no satisface uno o todos estos criterios de aromaticidad se define en el presente documento como "no aromático", y está englobado por el término "alícíclico".

[0077] En general, el término "resto heteroaromático", como se usa aquí, se refiere a un resto estable mono o policíclico, no saturado que tiene preferiblemente 3-14 átomos de carbono, cada uno de los cuales puede estar sustituido o no sustituido; y que comprende al menos un heteroátomo seleccionado de O, S y N dentro del anillo en lugar de un átomo de carbono del anillo). En ciertas realizaciones, el término "resto heteroaromático" se refiere a un anillo plano que comprende al menos un heteroátomo, que tiene orbitales p perpendiculares al plano del anillo en cada átomo del anillo, y que cumple la regla de Huckel donde el número de electrones pi en el anillo es $(4n+2)$ en donde n es un número entero.

[0078] También se apreciará que restos aromáticos y heteroaromáticos, tal como se define en el presente documento pueden estar unidos a través de un resto alquilo o heteroalquilo y por lo tanto también incluyen restos (alquil) aromáticos, -(heteroalquilo) aromáticos, -(heteroalquilo) heteroaromáticos, y -(heteroalquilo) heteroaromáticos. Por lo tanto, como se usa en este documento, las frases "restos aromáticos o heteroaromáticos" y "aromáticos, (heteroalquil) aromáticos, -(heteroalquil) heteroaromáticos y (heteroalquil) heteroaromáticos" son intercambiables. Los sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los sustituyentes mencionados anteriormente, por ejemplo, los sustituyentes mencionados para restos alifáticos, o para otros restos como se describe en el presente documento, dando como resultado la formación de un compuesto estable.

[0079] El término "arilo", como se usa en este documento, no difiere significativamente del sentido común del término en la técnica, y se refiere a un resto cíclico insaturado que comprende al menos un anillo aromático. En ciertas realizaciones, "arilo" se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos que incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo e indenilo.

[0080] El término "heteroarilo" como se usa en este documento, no difiere significativamente del sentido común del término en la técnica, y se refiere a un radical aromático cíclico que tiene de cinco a diez átomos de anillo de los cuales se selecciona un átomo del anillo de S, y N; cero, uno o dos átomos en el anillo son heteroátomos adicionales seleccionados independientemente de S y N; y los átomos del anillo restantes son carbono, el radical se une al resto de la molécula a través de cualquiera de los átomos del anillo, como, por ejemplo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo e isoquinolinilo.

[0081] Se apreciará que los grupos arilo y heteroarilo (incluyendo grupos arilo bicíclicos) pueden estar no sustituidos o sustituidos, en donde la sustitución incluye la sustitución de uno o más de los átomos de hidrógeno del mismo de forma independiente con uno cualquiera o más de los siguientes restos que incluyen, pero no se limitan a: alifático; alícíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; heteroalquilarilo; alquilheteroarilo; heteroalquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -(=O)R_x; -(=O)N(R_x)₂; -OC(=O)R_x; -OCO₂R_x; -OC(=O)N(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x donde cada aparición de R_x incluye independientemente, pero no se limita a, alifático, alícíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilalarilo o heteroalquilheteroarilo en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alícíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilarilo o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, saturados o insaturados, y en donde cualquiera de los sustituyentes aromáticos, heteroaromáticos, arilo, heteroarilo, - (alquil) aril o - (alquil) heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos. Además, se apreciará que cualquiera de los dos grupos adyacentes tomados juntos puede representar un resto alícíclico o heterocíclico sustituido o no sustituido de 4, 5, 6 o 7 miembros. Ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

[0082] El término "cicloalquilo", como se usa aquí, se refiere específicamente a grupos que tienen de tres a siete, preferiblemente de tres a diez átomos de carbono. Los cicloalquilos adecuados incluyen, pero no se limitan a ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo, que, como en el caso de restos alifáticos, alícíclicos, heteroalifáticos o heterocíclicos, pueden estar opcionalmente sustituidos con sustituyentes que incluyen, pero no se limitan a alifático; alícíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; heteroalquilarilo; alquilheteroarilo; heteroalquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -F₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(=O)R_x; -C(=O)N(R_x)₂; -OC(=O)R_x; -OCO₂R_x; -OC(=O)N(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x en donde cada aparición de R_x incluye independientemente, pero no se limita a, alifático, alícíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilalarilo o heteroalquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alícíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilaril o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o no

ramificados, saturados o insaturados, y en donde cualquiera de los sustituyentes aromáticos, heteroaromáticos, aril o heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos. Ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

[0083] El término "heteroalifático", como se usa aquí, se refiere a restos alifáticos en los que uno o más átomos de carbono en la cadena principal han sido sustituidos con un heteroátomo. Por lo tanto, un grupo heteroalifático se refiere a una cadena alifática que contiene uno o más átomos de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio, e. lugar de los átomos de carbono. Los restos heteroalifáticos pueden ser lineales o ramificados, y saturados o insaturados. En ciertas realizaciones, los restos heteroalifáticos se sustituyen por el reemplazo independiente de uno o más de los átomos de hidrógeno con uno o más restos que incluyen, pero no se limitan a alifáticos; alicíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; alquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(=O)R_x; -C(=O)N(R_x)₂; -OC(=O)R_x; -OCO₂R_x; -OC(=O)N(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x en donde cada aparición de R_x incluye independientemente, pero no está limitado a, alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilalilarilo o heteroalquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alicíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilaril o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, saturados o insaturados, y en donde cualquiera de los sustituyentes aromáticos, heteroaromáticos, aril o heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos. Ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

[0084] El término "heterocicloalquilo", "heterociclo" o "heterocíclico", como se usa aquí, se refiere a compuestos que combinan las propiedades de los compuestos heteroalifáticos y cíclicos e incluyen, pero no se limitan a sistemas de anillo cíclico saturado e insaturado mono o policíclico que tienen 5-16 átomos en donde al menos un átomo de anillo es un heteroátomo seleccionado de S y N (en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar oxidados opcionalmente), en donde los sistemas de anillo están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales, como se ha definido aquí. En ciertas realizaciones, el término "heterocicloalquilo", "heterociclo" o "heterocíclico" se refiere a un anillo no aromático de 5, 6 o 7 miembros o un grupo policíclico en donde al menos un heteroátomo de átomo de anillo seleccionado de S y N (en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden ser opcionalmente oxidados), que incluyen, pero no se limitan a, un grupo bi o tricíclico, que comprende anillos fusionados de seis miembros que tienen entre uno y tres heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno, en donde (i) cada anillo de 5 miembros tiene 0 a 2 dobles enlaces, cada anillo de 6 miembros tiene 0 a 2 dobles enlaces y cada anillo de 7 miembros tiene 0 a 3 dobles enlaces, (ii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden opcionalmente oxidarse, (iii) el heteroátomo de nitrógeno puede opcionalmente cuaternizarse, y (iv) cualquiera de los anillos heterocíclicos anteriores puede fusionarse a un anillo arilo o heteroarilo. Heterociclos representativos incluyen, pero no se limitan a, heterociclos tales como furanilo, piranilo, pirrolilo, tienilo, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, isooxazolilo, isoxazolidinilo, dioxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tetrazolilo, triazolilo, tiatriazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, morfolinilo, tiazolilo, tiazolidinilo, isotiazolilo, isotiazolidinilo, ditiazolilo, ditiazolidinilo, tetrahidrofurilo y derivados benzofusionados de los mismos. En ciertas realizaciones, se utiliza un grupo "heterociclo sustituido, o heterocicloalquilo o heterocíclico" y como se usa en el presente documento, se refiere a un heterociclo, o grupo heterocicloalquilo o heterocíclico, como se definió anteriormente, sustituido por el reemplazo independiente de uno, dos o tres de los átomos de hidrógeno sobre los mismos con, pero sin limitación, alifáticos; alicíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; heteroalquilalilarilo; alquilheteroarilo; heteroalquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(=O)R_x; -C(=O)N(R_x)₂; -OC(=O)R_x; -OCO₂R_x; -OC(=O)N(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x en donde cada aparición de R_x incluye independientemente, pero no está limitado a, alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilalilarilo o heteroalquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alicíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilaril o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, saturados o insaturados, y en donde cualquiera de los aromáticos, heteroaromáticos, aril o heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos. Además, se apreciará que cualquiera de los restos alicíclicos o heterocíclicos descritos anteriormente y en el presente documento puede comprender un resto arilo o heteroarilo fusionado al mismo.

[0085] Los términos "halo" y "halógeno" usados en este documento se refieren a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.

[0086] El término "haloalquilo" indica un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene uno, dos, o tres átomos de halógeno unidos a él y se ejemplifica mediante grupos tales como clorometilo, bromoetilo y trifluorometilo.

[0087] El término "amino" como se usa en el presente documento, se refiere a una amina primaria (-NH₂), secundaria (-NHR_x), terciaria (-NR_xR_y), o cuaternaria (-N⁺R_xR_yR_z), donde R_yR_z son independientemente un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático o heteroaromático, como se define en el presente documento. Los ejemplos

de grupos amino incluyen, pero no se limitan a, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino, dietilaminocarbonilo, iso-propilamino, piperidino, trimetilamino y propilamino.

[0088] El término "acilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo que tiene la fórmula general $C(=O)R$, donde R es un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático o heteroaromático, tal como se define en el presente documento.

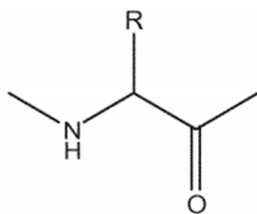
[0089] El término "sulfonamido" como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de la fórmula SO_2NRxRy general donde Rx y Ry son independientemente hidrógeno, o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático o acilo resto, como se define aquí.

[0090] El término "benzamido", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de la fórmula general $PhNRx$, donde Rx es hidrógeno, o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático o acilo, como se define aquí.

[0091] Como se usa en el presente documento, los términos "alifático", "heteroalifático", "alquilo", "alquenilo", "alquinilo", "heteroalquilo", "heteroalquenilo", y "heteroalquinilo", abarcan grupos sustituidos y no sustituidos, saturados e insaturados, y lineales y ramificados. De manera similar, los términos "alicíclico", "heterocíclico", "heterocicloalquilo" y "heterociclo" abarcan grupos sustituidos y no sustituidos y saturados e insaturados. Además, los términos "cicloalquilo", "cicloalquenilo", "cicloalquinilo", "heterocicloalquilo", "heterocicloalquenilo", "heterocicloalquinilo", "aromático", "heteroaromático", "arilo", y "heteroarilo" abarcan tanto grupos sustituidos como no sustituidos.

[0092] el término "aminoácido natural" como se usa en el presente documento se refiere a uno cualquiera de L-aminoácidos comunes que se encuentran naturalmente en las proteínas naturales: glicina (Gly), alanina (Ala), valina (Val), leucina (Leu), isoleucina (Ile), lisina (Lys), arginina (Arg), histidina (His), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr), triptófano (Trp), ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), asparagina (Asn), glutamina (Gln), cisteína (Cys) y metionina (Met).

[0093] El término "aminoácido no natural" como se usa aquí se refiere a todos los aminoácidos que no son aminoácidos naturales. Esto incluye, por ejemplo, residuos de aminoácidos α , β , D, L y compuestos de la fórmula general:



en donde la cadena lateral R es distinta de las cadenas laterales de aminoácidos que se producen en la naturaleza.

[0094] De manera más general, el término "aminoácido", como se usa aquí, abarca los aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales ácidos.

[0095] La presente invención proporciona antagonistas de LFA-1 formulados o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos que son adecuados para la administración tópica. En particular, los antagonistas de LFA-1 son particularmente adecuados para el tratamiento localizado al tener una velocidad de eliminación sistémica rápida. La invención también abarca formulaciones tópicas de LFA-1 de la presente invención para uso en métodos de tratamiento y prevención de trastornos inmunes relacionados usando dichas formulaciones tópicas de LFA-1 de la presente invención. Las ventajas de la terapia antagonista de LFA-1 localizada administrada por vía tópica incluyen la administración de una concentración más alta de compuesto activo al sitio de interés, la administración rápida del compuesto activo y la disminución de los efectos sistémicos debido a los niveles circulantes sistémicos más bajos.

[0096] Se describen varios aspectos de la invención con más detalle en las siguientes subsecciones.

Composiciones de antagonista LFA-1 para el tratamiento tópico localizado

[0097] La presente invención incluye formulaciones para tratamiento localizado de trastornos relacionados con el sistema inmune. Las formulaciones comprenden un antagonista de LFA-1 en una composición adecuada para la administración tópica a un sujeto. Las composiciones pueden incluir gel, crema, loción, solución, suspensión, emulsión, pomada, polvo, formas cristalinas, aerosol, espuma, ungüento, pasta, yeso, pintura, micropartículas, nanopartículas y bioadhesivo. Las formulaciones pueden incluir además ingredientes adicionales tales como ingredientes para facilitar la administración de los compuestos activos, mejorar el efecto terapéutico, tener un efecto secundario o minimizar los efectos secundarios. Las formulaciones de la presente invención se describen más completamente a continuación.

[0098] Las formulaciones tópicas de la presente invención contienen un antagonista de LFA-1 como un agente terapéutico. En una realización preferida de la divulgación, los antagonistas de LFA-1 de la presente divulgación tienen una velocidad de eliminación sistémica rápida. La interacción de LFA-1 con ICAM ejerce varios efectos sistémicos en todo el cuerpo. El tratamiento de un trastorno utilizando un antagonista de LFA-1 puede dar lugar a efectos no deseados debido a la actividad del antagonista de LFA-1 en lugares no deseados, por ejemplo, que no sean en el sitio de administración. La presente invención utiliza antagonistas de LFA-1 que se eliminan rápidamente de la circulación sistémica. Al utilizar el suministro tópico al sitio de un trastorno inflamatorio o inmune, los efectos sistémicos no deseados se minimizan mientras se permite un tratamiento localizado. Los antagonistas de LFA-1 de la presente descripción tienen típicamente una actividad antagonista sistémica mínima de LFA-1. En algunas realizaciones, los antagonistas de LFA-1 de la presente descripción pueden tener actividad antagonista sistémica de LFA-1 indetectable.

[0099] La tasa de depuración sistémica se puede calcular por diversos medios conocidos en la técnica. Por ejemplo, la tasa de eliminación de un fármaco puede calcularse a partir de un análisis del perfil de tiempo de concentración de fármaco para el perfil de tiempo de concentración de fármaco para la tasa de desaparición de un fármaco del plasma después de la administración de la formulación, por ejemplo, después de una sola inyección intravenosa. Un experto en la materia podría usar una variedad de métodos para calcular y determinar las tasas de depuración sistémica. Por ejemplo, la tasa de desaparición puede medirse mediante el análisis de la absorción, distribución, metabolismo y excreción de una forma radiomarcada de un medicamento u otro medio para medir el nivel del medicamento en plasma, como la cromatografía de gases (Sapirstein et al., 1955, Am. Jour. Physiol., Vol. 181, págs. 330; Patente de los Estados Unidos Núm. 4,908,202), métodos de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LCMS) o métodos de HPLC. Como otro ejemplo, la tasa de aclaramiento se puede calcular introduciendo la formulación al sujeto mediante infusión intravenosa continua hasta que se alcanza un equilibrio en donde el nivel plasmático de la sustancia (según lo determinado por el análisis de muestras de plasma) es estable, en ese punto el la velocidad de infusión es igual a la velocidad de eliminación del plasma (Earle et al., 1946, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., Vol. 62, pp. 262 y sigs.).

[0100] La eliminación sistémica rápida puede ser a través de la eliminación o metabolismo en el hígado, riñón u otros órganos. Los datos para la velocidad de eliminación a través del hígado en ratas se dan para compuestos seleccionados en la **Figura 1** (véase también el Ejemplo 11). Cuando el aclaramiento ocurre en un órgano en particular, la tasa de aclaramiento está relacionada con el flujo de sangre a ese órgano en particular. Al conocer el mecanismo en donde se despeja un compuesto para una especie en particular, la tasa de depuración para otros animales se puede calcular mediante escala alométrica. Por ejemplo, se sabe que un compuesto de la presente descripción, el Compuesto 12, se elimina a través del hígado en ratas. Según la tasa de eliminación calculada en ratas, la eliminación del compuesto se puede escalar para varios animales en función del flujo sanguíneo conocido en ratas en comparación con otros animales (véase Davies y Morris, " Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans" Pharmaceutical Research (1993) 10: 1093-5). Un antagonista de LFA-1 de la presente descripción puede tener una tasa de depuración sistémica cercana al gasto cardíaco, el flujo sanguíneo hepático o el flujo sanguíneo renal cuando se escala a un humano. La escala puede basarse en el porcentaje de gasto cardíaco, flujo sanguíneo hepático o sangre renal. Por ejemplo, el 100% del flujo sanguíneo hepático de rata sería de aproximadamente 55 ml/min/kg mientras que el 100% del flujo sanguíneo hepático humano sería de aproximadamente 20 ml/min/kg. En algunas realizaciones, las composiciones de la invención tienen una velocidad de eliminación de al menos 5% del flujo sanguíneo hepático. En humanos, esto significaría una tasa de depuración de 1 ml/min/kg. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una tasa de depuración de al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% del flujo sanguíneo hepático tasa en humanos (que sería una tasa de depuración en el hígado humano de 20 ml/min/kg). En otras realizaciones más, el antagonista de LFA-1 tiene una tasa de eliminación de al menos aproximadamente 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 175%, 200%, 220%, 240%, 260%, 280%, 300%, 320%, 340%, 360%, 380%, 400%, 420%, 440%, 460%, 480% o 500% de la tasa de flujo sanguíneo hepático en humanos.

[0101] Las tasas de aclaramiento de la presente invención pueden incluir tasas de aclaramiento escaladas a los seres humanos de aproximadamente 1-500 ml/min/kg. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 1 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 2 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 3 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 5 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una tasa de depuración sistémica de aproximadamente 7 ml/min/kg o mayor. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 10 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 15 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 20 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 25 ml/min/kg o mayor. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad sistémica de depuración de aproximadamente 30 ml/min/kg o mayor. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 40 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de aproximadamente 50 ml/min/kg o mayor. En otras realizaciones más, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de eliminación sistémica de al menos aproximadamente 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 ml/min/kg.

[0102] En otro aspecto de la divulgación, el antagonista de LFA-1 de la presente divulgación tiene un efecto inhibidor sobre la unión de LFA-1 a ICAM-1. El efecto inhibidor de los antagonistas de LFA-1 de la presente descripción puede probarse usando cualquiera de una variedad de ensayos de unión conocidos en la técnica, incluyendo la unión celular directa a placas recubiertas con ICAM-1, ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA), radioinmunoensayo (RIA) o el uso de biosensores. El efecto inhibitorio de un medicamento generalmente se mide como un valor CI50, que mide cuánto compuesto se requiere para inhibir el 50% de un proceso biológico. Alternativamente, el efecto inhibidor puede calcularse como un valor de CE50, que mide la concentración efectiva mediante la cual el fármaco funciona para lograr el 50% del efecto deseado. Por ejemplo, el valor de CE50 podría medirse para calcular la inhibición de que las células T que expresan LFA-1 se unan a ICAM-1. Por ejemplo, las líneas de células T que se sabe que expresan LFA-1 pueden usarse para calcular un valor de CI50 por inhibición de la unión a placas recubiertas con ICAM-1. Como ejemplo, la línea de células T HuT78 (ATCC TIB-161) puede unirse a placas recubiertas con ICAM-1 en presencia de concentraciones crecientes de un antagonista de LFA-1 (ver Ejemplo 1). En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 es un inhibidor directamente competitivo de la interacción entre LFA-1 e ICAM-1. En la técnica se describen ejemplos de experimentos de unión competitiva para antagonistas de LFA-1, por ejemplo, la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2005/0148588 y la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 60/999,571; Gadek y col. Science 295, 1086-1089, 2002, y Keating et al. Protein Science, 15, 290-303, 2006. El CE50 o CI50 puede usarse en las realizaciones descritas a continuación. Tales ensayos pueden usarse para identificar inhibidores que son inhibidores directamente competitivos.

[0103] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 inhibe la unión celular de HuT78 a placas recubiertas con ICAM-1 con una CE50 de 10 μ M o menos. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 inhibe la unión celular de HuT78 o Jurkat a placas recubiertas con ICAM-1 con una CE50 de 1 μ M o menos. Alternativamente, el antagonista de LFA-1 inhibe la unión celular de HuT78 o Jurkat a las placas recubiertas con ICAM-1 con una CE50 de 100 nM o menos. En algunas otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 inhibe la unión celular de HuT78 o Jurkat a placas recubiertas con ICAM-1 con una CE50 de 10, 5 o 1 nM o menos. Los datos para la inhibición de la unión celular de HuT78 a ICAM-1 para los antagonistas seleccionados de LFA-1 de Fórmula I y Fórmula II se muestran en la **Figura 1**.

[0104] El efecto inhibidor de los antagonistas de LFA-1 de la presente descripción también puede ser probado usando eventos aguas abajo conocidos después de la unión de LFA-1 a ICAM-1. Por ejemplo, se sabe que IL-2 se libera de las células T humanas en cultivo primario después de la estimulación por la enterotoxina B del estafilo superantígeno (SEB) u otros estímulos inflamatorios.

[0105] En una realización, el antagonista de LFA-1 inhibe la liberación de IL-2 de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en cultivo primario estimulado con SEB con un CI50 o CE50 de 10 mM o menos. En otra realización, el antagonista de LFA-1 inhibe la liberación de IL-2 de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en cultivo primario estimulado con SEB con una CI50 o CE50 de 1 mM o menos. En otras realizaciones más, el antagonista de LFA-1 inhibe la liberación de IL-2 de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en cultivo primario estimulado con SEB con una CI50 o CE50 de 100 μ M o menos. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 inhibe la liberación de IL-2 de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en cultivo primario estimulado con SEB con una CI50 o CE50 de 1 μ M, 100nM, 10nM o 1 nM o menos. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 inhibe simultáneamente la liberación de dos o más citocinas inflamatorias con CI50 o CE50 de 1 μ M o menos cuando las PBMC se estimulan con SEB. El antagonista de LFA-1 también puede inhibir simultáneamente la liberación de dos o más citocinas con CI50 o CE50 de 100 nM o menos cuando las PBMC se estimulan con SEB. En realizaciones adicionales, el antagonista de LFA-1 inhibe simultáneamente la liberación de IL-2 e IL-4 con CI50 o CE50 de 500 nM o menos cuando las PBMC se estimulan con SEB. Esto es particularmente importante ya que la liberación de IL-2 e IL-4 juega un papel importante en las enfermedades inflamatorias mediadas por linfocitos Th1 y Th2. En otra realización más, el antagonista de LFA-1 inhibe simultáneamente la liberación de IL-1 (alfa), IL-1 (beta), IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, interferón gamma, MIP 1 (alfa), MCP-1, TNF (alfa) y GM-CSF con CI50 o CE50 de 1 μ M o menos cuando las PBMC se estimulan con SEB.

[0106] El antagonista de LFA-1 se administra de tal manera que se logra una concentración terapéuticamente efectiva local. Por ejemplo, la concentración terapéuticamente efectiva se puede lograr con una concentración de tejido local de LFA-1 mayor de aproximadamente 1 nM. En otra realización, la concentración terapéuticamente efectiva local se puede lograr con una concentración de tejido local de LFA-1 mayor de aproximadamente 10 nM. En algunas otras realizaciones, la concentración terapéuticamente efectiva local puede lograrse con una concentración de tejido local de LFA-1 mayor de aproximadamente 100 nM. En otra realización más, la concentración terapéuticamente efectiva local puede lograrse con una concentración local de LFA-1 en el tejido mayor de aproximadamente 1 μ M. En otras realizaciones, la concentración local terapéuticamente efectiva puede lograrse con una concentración local de LFA-1 en el tejido de más de aproximadamente 10 μ M. En otra realización, se logra la concentración local terapéuticamente efectiva de mientras se mantiene un nivel sistémico bajo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se logra una concentración local terapéuticamente efectiva de aproximadamente 1 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 1 μ M o aproximadamente 10 μ M mientras se mantiene una concentración sistémica del fármaco de menos de 1 μ M. En otras realizaciones, se logra una concentración local terapéuticamente efectiva de

aproximadamente 1 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 1 μ M o aproximadamente 10 μ M mientras se mantiene una concentración sistémica del fármaco de menos de 100 nM. En otras realizaciones más, se logra una concentración terapéuticamente efectiva de aproximadamente 1 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 1 μ M o aproximadamente 10 μ M mientras se mantiene una concentración sistémica del fármaco de menos de 10 nM. La invención proporciona otras realizaciones en las que se logra una concentración terapéuticamente efectiva de aproximadamente 1 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 1 μ M o aproximadamente 10 μ M con una concentración sistémica del fármaco de menos de 1 nM. La concentración sistémica del fármaco se puede medir mediante la concentración plasmática en sangre usando cualquiera de una variedad de métodos conocidos en la técnica y como se describe anteriormente.

[0107] En otro aspecto de la invención, la concentración tisular local de LFA-1 antagonista se mantiene a niveles terapéuticamente efectivos durante un periodo prolongado de tiempo. En algunas realizaciones, puede desearse que las concentraciones tisulares locales de un antagonista de LFA-1 se mantengan a niveles terapéuticamente efectivos durante un cierto periodo de tiempo o entre dosis. Al seleccionar los antagonistas de LFA-1 que pueden mantener niveles terapéuticamente efectivos locales durante periodos prolongados, el sujeto puede lograr un efecto terapéutico sin la administración de múltiples dosis por día. Por ejemplo, los antagonistas de LFA-1 de la presente descripción, cuando se administran al ojo en una solución de aproximadamente 1%, pueden estar presentes a niveles de concentración de tejido local superiores a aproximadamente 1 μ M durante 16-24 horas después de la dosis, un periodo de tiempo considerado suficiente para un reclamo de administración una vez al día de un medicamento oftálmico. Una administración local de un antagonista de LFA-1 de la presente divulgación cuando se administra a la piel como una solución, gel, pomada o crema de aproximadamente el 1% puede proporcionar niveles de concentración de tejido local en la epidermis y la dermis por encima de 1 μ M durante 24 horas. El nivel de concentración de tejido local puede medirse mediante cualquiera de una variedad de métodos conocidos en la técnica, como el análisis radiomarcado.

[0108] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M durante al menos aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 22 horas o aproximadamente 24 horas después de la administración a un sujeto.

[0109] En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local mayor de aproximadamente 100 nM durante al menos aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 22 horas o aproximadamente 24 horas después de la administración a un sujeto.

[0110] En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 100 nM durante al menos aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 22 horas o aproximadamente 24 horas después de la administración a un sujeto. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 se mantiene a un nivel de concentración de tejido local mayor de aproximadamente 100 nM durante aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas o aproximadamente 24 horas.

[0111] En otras realizaciones más, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 10 nM durante al menos aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 22 horas o aproximadamente 24 horas después de la administración a un sujeto. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 se mantiene a un nivel de concentración de tejido local mayor de aproximadamente 10 nM durante aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas o aproximadamente 24 horas.

[0112] La descripción también proporciona realizaciones en las que el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 nM durante al menos aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas,

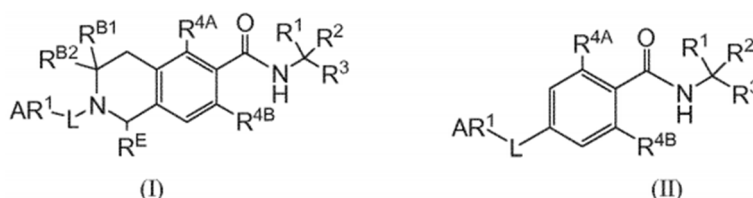
aproximadamente 14 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 22 horas o aproximadamente 24 horas después de la administración a un sujeto.

Compuestos antagonistas de LFA-1

[0113] Los compuestos antagonistas de LFA-1 específicos se han descrito previamente en la técnica y pueden usarse en la presente descripción. Por ejemplo, los antagonistas de LFA-1 se han descrito en la Patente de los Estados Unidos Núm. 7,314,938, la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 2006/0281739, la Solicitud de los Estados Unidos Núm. de Serie 12/288,330, y las Solicitudes de los Estados Unidos en trámite Números WSGR 32411-712,201, 32411-709,201 y 32411-710,201. Los compuestos pueden sintetizarse como se describe en estas referencias.

[0114] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 es un inhibidor directamente competitivo de la interacción de LFA-1 e ICAM-1.

[0115] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 de la presente descripción tiene una estructura de Fórmula (I) o (II):

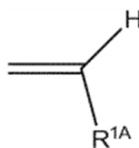


[0116] En donde R^1 y R^2 son cada uno independientemente hidrógeno, una cadena lateral de aminoácidos, $-(CH_2)_mOH$, $-(CH_2)_m$ arilo, $-(CH_2)_m$ heteroarilo, en donde m es 0-6, $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$, $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$, U-T-Q, o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático o heteroalíclico opcionalmente sustituido con U-T-Q,

[0117] en donde U está ausente, $-O-$, $-S(O)_{0-2}-$, $-SO_2N(R^{1A})$, $-N(R^{1A})-$, $-N(R^{1A})C(=O)-$, $-N(R^{1A})C(=O)-O-$, $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$, $-N(R^{1A})-SO_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-OC(=O)-$, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, $-C(=O)-N(R^{1A})-$, $-OC(=O)N(R^{1A})-$, $-(=NR^{1E})-$, $-(=NR^{1E})-O-$, $-(=NR^{1E})-N(R^{1A})-$, $-OC(=O)N(R^{1A})-$, $-N(R^{1A})C(=NR^{1E})-$, $-N(R^{1A})C(=NR^{1E})-O-$, $-N(R^{1A})C(=NR^{1E})-N(R^{1B})-$, $-P(=O)(OR^{1A})-O-$, o $-P(=O)(R^{1A})-O-$;

[0118] T está ausente, un resto alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo; y

[0119] Q es hidrógeno, halógeno, ciano, isocianato, $-OR^{1B}$, $-SR^{1B}$, $-N(R^{1B})_2$, $-NHC(=O)OR^{1B}$, $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$, $-NHC(=O)R^{1B}$, $-NHSO_2R^{1B}$, $NHSO_2N(R^{1B})_2$, $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$, $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$, $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$, $C(=O)NHC(=O)R^{1B}$, $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$, $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$, $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$, $C(=S)N(R^{1B})_2$, $-SO_2R^{1B}$, $-SO_2OR^{1B}$, $-SO_2N(R^{1B})_2$, $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$, $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$, $-OC(=O)R^{1B}$, $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$, $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$, $-OSO_2R^{1B}$, o un resto alifático heteroalifático, arilo o heteroarilo, o en donde R^1 y R^2 tomados juntos son un resto alicíclico o heterocíclico, o juntos son



[0120] en donde cada aparición de R^{1A} y R^{1B} es independientemente hidrógeno, un grupo alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, resto arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo, $-C(=O)R^{1C}$, o $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$; en donde cada aparición de R^{1C} y R^{1D} es independientemente hidrógeno, hidroxilo, o un resto alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo; y R^{1E} es hidrógeno, un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo, $-N$, $-OR^{1C}$, $-NR^{1C}R^{1D}$ o $-SO_2R^{1C}$;

[0121] R^3 es $-C(=O)OR^{3A}$, $-C(=O)H$, $-CH_2-OR^{3A}$, $-CH_2-OC(=O)-$ alquilo, $OC(=O)NH(R^{3A})$, $-CH_2X^0$; en donde cada aparición de R^{3A} es independientemente hidrógeno, un grupo protector, un grupo alifático, alicíclico, heteroalifático, heteroalíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilalil heteroalquilheteroarilo, o sal o éster farmacéuticamente aceptable, o R^{3A} , tomado junto con R^1 y R^2 , forman un resto heterocíclico; en donde X^0 es un halógeno seleccionado de F, Br o I;

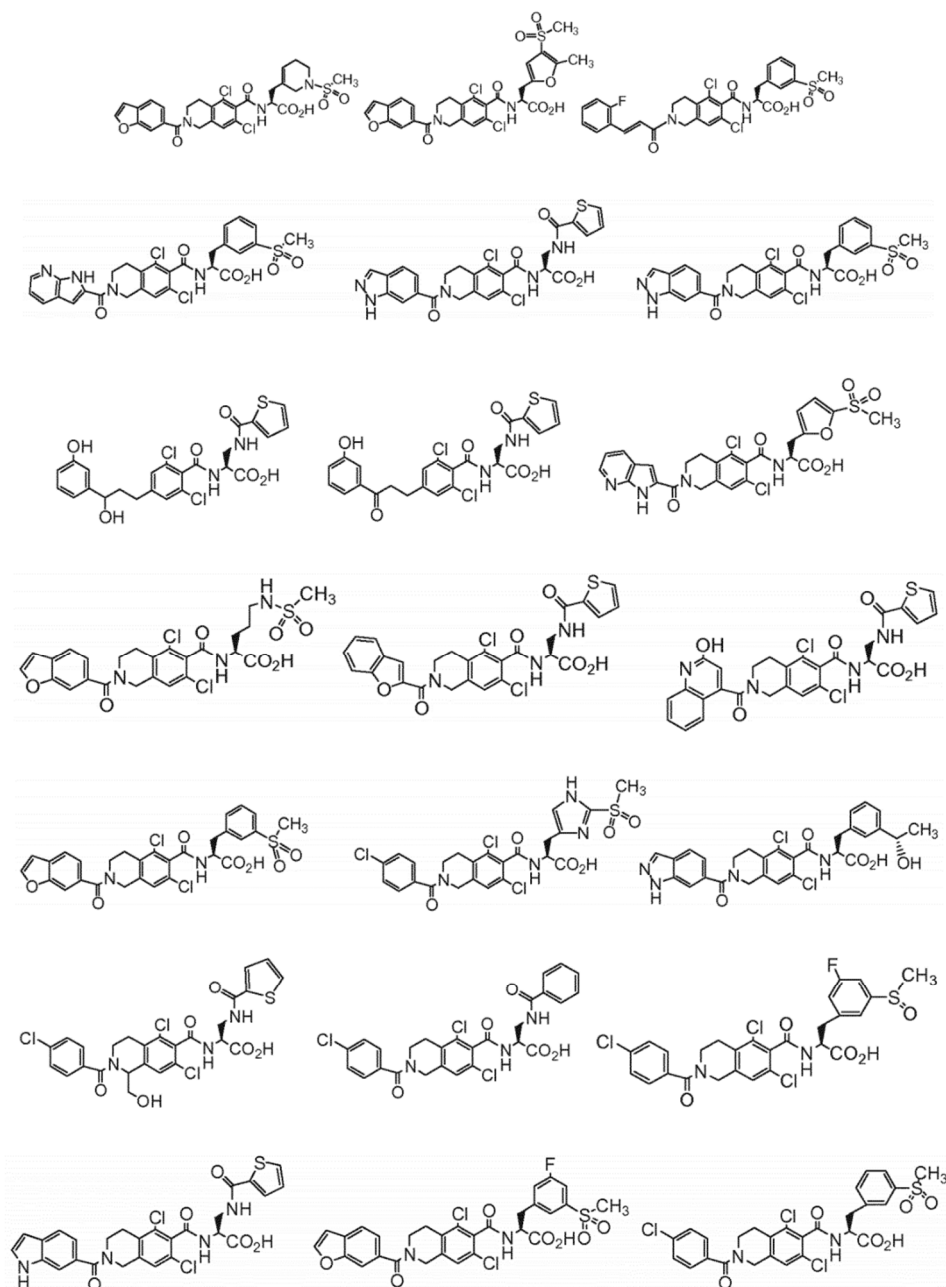
[0122] en donde R^{4A} y R^{4B} son independientemente un halógeno seleccionado de F, Cl, Br o I; y R^{B1} , R^{B2} y R^E son independientemente hidrógeno o alquilo inferior sustituido o no sustituido;

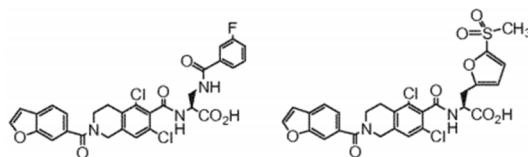
[0123] AR^1 es un anillo arilo monocíclico o policíclico, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, alicíclico o heterocíclico;

y,

[0124] L está ausente o es V-W-X-Y-Z, donde cada aparición de V, W, X, Y y Z está independientemente ausente, C=O, NR^{L1}, -O-, -C(R^{L1})=, =C(R^{L1})-, -C(R^{L1})(R^{L2}), C(=N-O R^{L1}), C(=NR^{L1}), -N=, S(O)₀₋₂; una cadena alquénilideno C₁₋₆ sustituido o no sustituido o alquénilidina C₂₋₆ en donde hasta dos unidades de metileno no adyacentes se reemplazan independientemente opcionalmente por -(=O)-, -O₂-, -C(=O)C(=O)-, -(C=O)NR^{L3}-, -OC(=O)-, -OC(=O)NR^{L3}-, -NR^{L3}NR^{L4}-, -NR^{L3}NR^{L4}C(=O)-, -NR^{L3}C(=O)-, NR^{L3}CO₂-, NR^{L3}C(=O)NR^{L4}-, -S(=O)-, -SO₂-, -NR^{L3}SO₂-, -SO₂NR^{L3}-, -NR^{L3}SO₂NR^{L4}-, -O-, -S- o -NR^{L3}-; en donde cada aparición de R^{L3} y R^{L4} es independientemente hidrógeno, alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo o acilo; o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heteroalíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo; y cada aparición de R^{L1} y R^{L2} es independientemente hidrógeno, hidroxilo, hidroxilo protegido, amino, amino protegido, tio, tio protegido, halógeno, ciano, isocianato, carboxi, carboxialquilo, formilo, formiloxi, azido, nitro, ureido, tioureido, tiocianato, alcoxi, ariloxi, mercapto, sulfonamido, benzamido, tosilo o un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heteroalíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo, o en donde una o más ocurrencias de R^{L1} y R^{L2}, tomadas juntas, tomadas juntas con uno de V, W, X, y o Z forman un resto alicíclico o heterocíclico o forman un resto arilo o heteroarilo, y/o sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables.

[0125] Los compuestos de la presente descripción incluyen los siguientes:





y sus sales farmacéuticamente aceptables y ésteres.

[0126] Se contempla además, que el antagonista de LFA-1 se pueda utilizar en forma amorfa o el antagonista de LFA-1 puede ser cualquiera de las formas cristalinas que se describen en la solicitud copendiente número de expediente 32411-712,201. En algunas realizaciones de la divulgación, el compuesto de Fórmula (I) es la Forma A del Compuesto 12, que comprende un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos característicos en un ángulo de reflexión 2θ de aproximadamente 18,2, 21,4 y 22,7 grados; Forma B del Compuesto 12, que comprende un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos característicos en un ángulo de reflexión 2θ de aproximadamente 12,1, 17,1 y 18,5 grados; Forma C del Compuesto 12, que comprende un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos característicos en un ángulo de reflexión 2θ de aproximadamente 4,8, 17,8 y 21,5 grados; Forma D del Compuesto 12, que comprende un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos característicos en un ángulo de reflexión 2θ de aproximadamente 17,6, 21,7 y 24,8 grados; Forma E del Compuesto 12, que comprende un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos característicos en un ángulo de reflexión 2θ de aproximadamente 5,12, 8,26 y 17,8 grados; una forma amorfa del Compuesto 12, que comprende más del 90% de pureza; o cualquier combinación de los mismos.

[0127] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 de Fórmula I o Fórmula II es una sal. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen, pero sin limitación, sodio, litio, potasio, calcio y magnesio. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea apropiado, cationes de amonio no tóxico, amonio cuaternario y amina formados por reacción directa con el fármaco ácido carboxílico o mediante el uso de contraiones como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato y aril sulfonato. En una realización, el antagonista de LFA-1 se usa en los métodos de la divulgación, como la sal de sodio del ácido carboxílico.

[0128] Los anticuerpos específicos para la unión a LFA-1 pueden usarse en la presente descripción. El bloqueo de las CAM, como por ejemplo ICAM-1, o las leucointegrinas, como LFA-1, por anticuerpos dirigidos contra una o ambas moléculas puede inhibir la respuesta inflamatoria. Estudios anteriores han investigado los efectos de los MAb anti-CD 11a en muchas funciones inmunes dependientes de células T in vitro y en una serie de respuestas inmunes in vivo. In vitro, los MAb anti-CD11a inhiben la activación de las células T (verkuypers TW, Roos D. 1989 "Leukocyte membrane adhesion proteins LFA-1, CR3 and p150,95: a review of functional and regulatory aspects" Res. Immunol., 140: 461 - 465;

Fischer A, Durandy A, Sterkers G, Griscelli C. 1986 "Role of the LFA-1 molecule in cellular interactions required for antibody production in humans" J. Immunol., 136, 3198; lisis de células diana por linfocitos T citotóxicos (Krensky et al., supra), formación de conjugados inmunes (Sanders VM, Snyder JM, Uhr JW, Vitetta ES., "Characterization of the physical interaction between antigen-specific B and T cells". J. Immunol., 137: 2395 (1986); Mentzer SJ, Gromkowski SH, Krensky AM, Burakoff SJ, Martz E. 1985 "LFA-1 membrane molecule in the regulation of homotypic adhesions of human B lymphocytes" J. Immunol., 135: 9), y la adhesión de las células T al endotelio vascular (Lo SK, Van Seventer GA, Levin SM, Wright SD., Dos receptores de leucocitos (CD11a/CD18 y CD11b/CD18) median adhesión transitoria al endotelio mediante la unión a diferentes ligandos., J. Immunol., 143: 3325 (1989)). Dos PMA anti-CD11a, HI 111 y G43-25B están disponibles en Pharmingen/BD Biosciences. El anticuerpo monoclonal anti-murino M17 se ha estudiado para el tratamiento de trastornos mediados por LFA-1 en modelos de ratón de enfermedad y terapia humana (patente de los Estados Unidos N° 5,622,700). Además, un estudio que incluyó F8,8, CBR LFA 1/9, BL5, mayo,035, TS1/11, TS1/12, TS 1/22, TS2/14, 25-3-1, MHM2 y efalizumab evaluó el rango de los sitios de unión en LFA-1, estos anticuerpos ocuparon el bloqueo de ICAM que une una función leucocitaria. Ver Lu, C; Shimaoka, M.; Salas, A.; Springer, Ta 2004, "The Binding Sites for Competitive Antagonistic, Allosteric Antagonistic, and Agonistic Antibodies to the I Domain of Integrin LFA-1" J. Immun. 173: 3972-3978 y referencias en el mismo. En particular, se ha demostrado que >90% de ocupación de LFA-1 con efalizumab condujo a una mejora clínica superior al 50% en la puntuación PASI en un ensayo clínico que demuestra la eficacia de efalizumab (ver DL Mortenson et al. J Clin Pharmacol 2005; 45: 286-298. "Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Multiple Weekly Subcutaneous Efalizumab Doses in Patients With Plaque Psoriasis").

[0129] Los péptidos también han sido investigados para su uso en la reducción de la interacción de LFA-1 con ICAM-1 y pueden ser utilizados en la presente descripción. Los polipéptidos que no contienen una región Fc de una IgG se describen en la Patente de Estados Unidos N° 5,747,035, que se puede usar para tratar trastornos mediados por LFA-1, en particular la retinopatía diabética. El uso de péptidos duales, el primero un modulador de ICAM-1 y el segundo un péptido de bloqueo con una secuencia obtenida de LFA-1 se describe en la Patente de los Estados Unidos Núm. 5,843,885 para reducir las interacciones entre LFA-1 e ICAM-1. Los péptidos cíclicos se han descrito en la Patente de Estados Unidos N° 6,630,447 como inhibidores de la interacción LFA-1: ICAM-1.

[0130] Se pueden usar antagonistas de molécula pequeña en la presente descripción, por ejemplo, estatinas que se

unen al dominio CD11a de LFA-1. Verkallen, J., Welzenbach, K., Ramage, P., Geyl, D., Kriwacki, R., Legge, G., Cottens, S., Weitz Schmidt, G. y Hommel, U. 1999. "Structural basis for LFA-1 inhibition upon lovastatin binding to the CD11a I-domain", J. Mol. Biol., 292: 1-9; y Weitz-Schmidt, G., Welzenbach, K., Brinkmann, V., Kamata, T., Kallen, J., Bruns, C., Cottens, S., Takada, Y. y Hommel, U., 2001. Las estatinas inhiben selectivamente la función leucocitaria antígeno-1 al unirse a un nuevo sitio de integrina reguladora, Nature Med., 7: 687-692; y Frenette, PS 2001. "Locking a leukocyte integrin with statins", N. Engl. J. Med., 345: 1419-1421. Las moléculas derivadas del motivo mevinolina/compactina también muestran actividad contra LFA-1. Ver Welzenbach, K., Hommel, U., y Weitz-Schmidt, G. 2002. "Small molecule inhibitors induce conformational changes in the I domain and the I-like domain of Lymphocyte Function-Associated Antigen-1", J. Biol. Chem., 277: 10590-10598, y la Patente de Estados Unidos N° 6,630,492.

[0131] Además, otros antagonistas de LFA-1 conocidos reconocidos en la técnica pueden usarse en la presente descripción. Por ejemplo, una familia de inhibidores basados en hidantoína puede usarse como antagonistas de LFA-1. Verkelly, TA, Jeanfavre, DD, McNeil, DW, Woska, JR Jr., Reilly, PL, Mainolfi, EA, Kishimoto, KM, Nabozny, GH, Zinter, R., Bormann, B.-J. y Rothlein, R. 1999. "Cutting edge: a small molecule antagonist of LFA-1-mediated cell adhesion", J. Immunol., 163: 5173-5177. Se cree que estos compuestos son inhibidores alostéricos de LFA-1. Como otro ejemplo, una familia de nuevas p-ariltio cinnamidas puede actuar como antagonistas de LFA-1. Ver Liu, G.; Link, JT; Pei, Z.; Reilly, EB; Nguyen, B.; Marsh, KC; Okasinski, GF; von Geldern, TW; Ormes, M.; Fowler, K.; Gallatin, M. 2000 "Discovery of novel p-arythio cinnamides as antagonists of leukocyte function-associated antigen-1/intracellular adhesion molecule-1 interaction. 1. Identification of an additional binding pocket based on an anilino diaryl sulfide lead". J. Med. Chem 43, 4015-4030.

[0132] Otras familias de inhibidores de moléculas pequeñas se dan a conocer en las publicaciones (Ver Gadek, TR, Burdick, DJ, McDowell, RS, Stanley, MS, Marsters, JC Jr., París, KJ, Oare, DA, Reynolds, ME, Ladner, C., Zioncheck, KA, Lee, WP, Gribbling, P., Dennis, MS, Skelton, NJ, Tumas, DB, Clark, KR, Keating, SM, Beresini, MH, Tilley, JW, Presta, LG y Bodary, SC 2002. "Generation of an LFA-1 antagonist by the transfer of the ICAM-1 immunoregulatory epitope to a small molecule" Science, 295: 1086-1089 y material suplementario en línea.) y en patentes, incluida la patente de EE.UU. 6,872,735, Patente de Estados Unidos N° 6,667,318, Patente de Estados Unidos N° 6,803,384, Patente de Estados Unidos N° 6,515,124, Patente de Estados Unidos N° 6,331,640 y solicitudes de patentes, que incluyen: US 2002/0119994, US 2004/0058968, US 2005/0080119, WO99/49856, WO00/21920, WO01/58853, WO02/59114, WO05/044817 y otros.

Formulaciones tópicas de antagonistas de LFA-1

[0133] La invención es adecuada para el tratamiento localizado de trastornos inmunes relacionados. Las formulaciones contienen un antagonista de LFA-1 en una composición adecuada para administración tópica a un sujeto. Las composiciones pueden incluir gel, crema, loción, solución, suspensión, emulsión, pomada, polvo, formas cristalinas, aerosol, espuma, ungüento, pasta, yeso, pintura y bioadhesivo. Las formulaciones pueden incluir además ingredientes adicionales tales como ingredientes para facilitar la administración de los compuestos activos, mejorar el efecto terapéutico, tener un efecto secundario o minimizar los efectos secundarios. Dichas formulaciones permiten el suministro eficaz de antagonistas de LFA-1 al sitio de administración, tales como, entre otros, los ojos, la piel, la boca, la nariz, la mucosa vaginal y la mucosa anal.

[0134] La combinación particular de agente activo o agentes y excipientes puede determinarse en gran parte por compatibilidad química. Es decir, cada agente activo puede coexistir en la formulación farmacéutica tópica junto con la base y cualquier otro agente activo sin reaccionar o interactuar entre sí o con otros componentes de la formulación de manera que disminuya la eficacia terapéutica o aumente la probabilidad de efectos tóxicos u otros efectos adversos. Por lo tanto, por ejemplo, debe evitarse el contacto directo entre una base inorgánica fuerte, como el hidróxido de potasio, y un ácido, como el ácido salicílico, ya que dichos compuestos pueden reaccionar entre sí de manera perjudicial. Incluso tales reactivos pares de compuestos pueden, sin embargo, combinarse en una formulación tópica eficaz si, por ejemplo, el agente activo se protege (por ejemplo, el agente activo está contenido dentro de liposomas, micelas, microesferas, o estructuras similares), de modo que es liberado después de la penetración en la piel y después de que la base se haya disipado lo suficiente como para evitar una reacción significativa con el agente activo.

[0135] Se contempla además, que el antagonista de LFA-1 se puede utilizar en forma amorfa o cualesquiera de las formas cristalinas descritas en la solicitud copendiente de Estados Unidos número de expediente 32411 a 712,101. Cualquiera de las formas de LFA-1 también se puede moler para proporcionar propiedades más adecuadas para la formulación. La molienda puede proporcionar un tamaño de partícula más pequeño con una mayor exposición del área superficial, lo que puede proporcionar una solubilización más rápida in vivo o durante la formulación. Alternativamente, la molienda a un tamaño de partícula más pequeño puede proporcionar la capacidad de pasar a través de barreras biológicas, como la piel o la pared intestinal, directamente, sin solubilización inicial, lo que permite su uso como un sólido en la formulación, lo que puede proporcionar beneficios adicionales de estabilidad de temperatura, vida útil, facilidad de transporte y facilidad de uso por parte del sujeto. Además, un experto en la materia podría determinar qué forma del antagonista de LFA-1, o una combinación de sus formas, puede unirse de forma liberable a polímeros biocompatibles para su uso en formulaciones de liberación sostenida. La liberación controlada de un polímero biocompatible puede utilizarse también con un polímero soluble en agua para formar una formulación instilable. Se puede usar cualquier polímero biodegradable y biocompatible adecuado.

[0136] En otro aspecto más, los compuestos antagonistas de LFA-1 de la presente divulgación se pueden administrar tópicamente solo, por ejemplo, en una forma de polvo seco. Las formulaciones de polvo seco típicamente comprenderán la formulación en una forma seca, generalmente liofilizada, con un tamaño de partícula dentro de un rango preferido para la deposición dentro de la región alveolar del pulmón, típicamente de 0,5 µm a 5 µm.

Excipientes

[0137] Las composiciones farmacéuticas pueden incluir uno o más excipientes inertes, que incluyen agua, soluciones acuosas tamponadas, tensioactivos, líquidos volátiles, almidones, polioles, agentes granulantes, microcristalinacelulosa, diluyentes, lubricantes, ácidos, bases, sales, emulsiones, tales como emulsiones de aceite/agua, aceites tales como aceite mineral y aceite vegetal, agentes humectantes, agentes quelantes, antioxidantes, soluciones estériles, agentes complejantes y agentes desintegrantes. El CTFA Cosmetic Ingredient Handbook, Séptima Edición, 1997 y la Octava Edición, 2000, describe una amplia variedad de ingredientes cosméticos y farmacéuticos comúnmente utilizados en composiciones para el cuidado de la piel, que son adecuados para su uso en las composiciones de la presente invención. Los ejemplos de estas clases funcionales descritas en esta referencia incluyen: absorbentes, abrasivos, agentes antiaglomerantes, agentes antiespumantes, agentes antimicrobianos, antioxidantes, aglutinantes, aditivos biológicos, agentes tamponantes, agentes de carga, agentes quelantes, aditivos químicos, colorantes, astringentes cosméticos, biocidas cosméticas, desnaturalizantes, astringentes de drogas, analgésicos externos, formadores de película, componentes de fragancias, humectantes, agentes opacificantes, ajustadores de pH, plastificantes, conservantes, agentes reductores, agentes blanqueadores de la piel, agentes acondicionadores de la piel (emolientes, humectantes, misceláneos y oclusivos), protectores de la piel, solventes, reforzadores de espuma, hidrótrofos, agentes solubilizantes, agentes antiinflamatorios esteroideos, tensioactivos/agentes emulsionantes, agentes de suspensión (no tensioactivos), agentes de protección solar, analgésicos tópicos, absorbentes de luz ultravioleta, refuerzos SPF, agentes espesantes, agentes impermeabilizantes y agentes que aumentan la viscosidad (acuosos y no acuosos).

[0138] Los tensioactivos que se pueden utilizar para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero no se limitan a, tensioactivos hidrófilos, tensioactivos lipófilos, y sus mezclas. Es decir, se puede emplear una mezcla de tensioactivos hidrófilos, se puede emplear una mezcla de tensioactivos lipófilos, o se puede emplear una mezcla de al menos un tensioactivo hidrófilo y al menos un tensioactivo lipófilo.

[0139] Un tensioactivo puede ser la forma de sal de sodio del compuesto, que puede incluir la forma de sal monosódica. Los tensioactivos de sal de sodio adecuados se pueden seleccionar en base a propiedades deseables, que incluyen alta velocidad de polimerización, pequeños tamaños de partícula resultantes adecuados para suministro, buenos rendimientos de polimerización, estabilidad que incluye estabilidad de congelación-descongelación y vida útil, propiedades de tensión superficial mejoradas y propiedades de lubricación.

[0140] El tensioactivo puede ser cualquier compuesto no tóxico adecuado que no sea reactivo con el medicamento y que reduzca sustancialmente la tensión superficial entre el medicamento, el excipiente y el sitio de administración. Los tensioactivos incluyen, pero no se limitan a: ácido oleico disponible con los nombres comerciales Mednique 6322 y Emersol 6321 (de Cognis Corp., Cincinnati, Ohio); cloruro de cetilpiridinio (de Arrow Chemical, Inc. Westwood, NJ); lecitina de soja disponible con el nombre comercial Epikuron 200 (de Lucas Meyer Decatur, Ill.); monolaurato de sorbitán de polioxietileno (20) disponible con el nombre comercial Tween 20 (de ICI Specialty Chemicals, Wilmington, Delaware); monoestearato de sorbitán de polioxietileno (20) disponible con el nombre comercial Tween 60 (de ICI); monooleato de sorbitán polioxietilenado (20) disponible con el nombre comercial Tween 80 (de ICI); polioxietilen (10) estearil éter disponible con el nombre comercial Brij 76 (de ICI); polioxietilen (2) oleil éter disponible con el nombre comercial Brij 92 (ceño fruncido ICI); Copolímero de bloque de polioxietilen-polioxipropileno-etilendiamina disponible con el nombre comercial Tetronic 150 R1 (de BASF); copolímeros de bloques de polioxipropileno-polioxietileno disponibles con los nombres comerciales Pluronic L-92, Pluronic L-121 y Pluronic F 68 (de BASF); aceite de ricino etoxilato disponible con el nombre comercial Alkasurf CO-40 (de RhOne-Poulenc Mississauga Ontario, Canadá); y mezclas de los mismos.

[0141] Un agente tensioactivo hidrófilo adecuado generalmente puede tener un valor de HLB de al menos 10, mientras que lipófilos adecuados tensioactivos pueden generalmente tener un valor HLB de 0 o menor de aproximadamente 10. Un parámetro empírico utilizado para caracterizar la hidrofiliidad relativa y la hidrofobicidad de compuestos no iónicos anfífilos es el equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor "HLB"). Los tensioactivos con valores más bajos de HLB son más lipofílicos o hidrófobos y tienen una mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos con valores más altos de HLB son más hidrófilos y tienen una mayor solubilidad en soluciones acuosas. Los tensioactivos hidrofílicos se consideran generalmente aquellos compuestos que tienen un valor de HLB mayor que aproximadamente 10, así como compuestos aniónicos, catiónicos o de ion híbrido para los que la escala de HLB no es generalmente aplicable. De manera similar, los tensioactivos lipofílicos (es decir, hidrófobos) son compuestos que tienen un valor de HLB igual o inferior a aproximadamente 10. Sin embargo, el valor de HLB de un tensioactivo es simplemente una guía aproximada generalmente utilizada para permitir la formulación de emulsiones industriales, farmacéuticas y cosméticas.

[0142] Los tensioactivos hidrófilos pueden ser o bien iónicos o no iónicos. Los tensioactivos iónicos adecuados

incluyen, pero sin limitación, sales de alquilamonio; sales de ácido fusídico; derivados de ácidos grasos de aminoácidos, oligopéptidos y polipéptidos; derivados de glicéridos de aminoácidos, oligopéptidos y polipéptidos; lecitinas y lecitinas hidrogenadas; lisolecitinas y lisolecitinas hidrogenadas; fosfolípidos y derivados de los mismos; lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de éster de ácido graso de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; lactilatos de acilo; ésteres de ácido tartárico mono y di-acetilado de mono y di-glicéridos; mono y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.

[0143] Dentro del grupo antes mencionado, tensioactivos iónicos incluyen, a modo de ejemplo: lecitinas, lisolecitina, fosfolípidos, lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de éster de ácido graso de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; lactilatos de acilo; ésteres de ácido tartárico mono y di-acetilado de mono y di-glicéridos; mono y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.

[0144] Los tensioactivos iónicos pueden ser las formas ionizadas de lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina, PEG-fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina, ésteres lácticos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato, estearoil lactilato, monoglicéridos succinilados, ésteres de ácido tartárico mono/diacetilado de mono/diglicéridos, ésteres de ácido cítrico de mono/diglicéridos, colilsarcosina, caproato, capilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, oleato, ricinoleato, linoleato, linolenato, estearato, lauril sulfato, teracecil sulfato, docusato, lauroil carnitinas, palmitoil carnitinas, miristoil carnitinas y sus sales y mezclas de las mismas.

[0145] Los tensioactivos no iónicos hidrófilos pueden incluir, pero no se limitan a, alquilglucósidos; alquilmaltosidos; alquiltioglucoídos; lauril macroglicéridos; alquiléteres de polioxialquilenos tales como alquiléteres de polietilenglicol; alquilfenoles de polioxialquilenos tales como alquilfenoles de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polioxialquilenos alquil fenol tales como monoésteres de ácidos grasos de polietilenglicol y diésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol y glicerol; ésteres de ácido graso de poliglicerol; ésteres de ácido graso de polioxialquilenos sorbitán tales como ésteres de ácido graso de polietilenglicol sorbitano; productos de transesterificación hidrofílica de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides; esteroides de polioxietileno, derivados y análogos de los mismos; vitaminas polioxietiladas y sus derivados; copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno; y mezclas de los mismos; ésteres de ácido graso de polietilenglicol sorbitano y productos de transesterificación hidrófilos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en triglicéridos, aceites vegetales y aceites vegetales hidrogenados. El poliol puede ser glicerol, etilenglicol, polietilenglicol, sorbitol, propilenglicol, pentaeritritol o un sacárido.

[0146] Otros agentes tensioactivos hidrófilos no iónicos incluyen, sin limitación, PEG-10, laurato de PEG-12, laurato de PEG-20, laurato de PEG-32, dilaurato de PEG-32, oleato de PEG-12, oleato de PEG-15, oleato de PEG-20, dioleato de PEG-20, oleato de PEG-32, oleato de PEG-200, oleato de PEG-400, estearato de PEG-15, diestearato de PEG-32, estearato de PEG-40, estearato de PEG-100, dilaurato de PEG-20, trioleato de glicerilo PEG-25, dioleato de PEG-32, laurato de glicerilo PEG-20, laurato de glicerilo PEG-30, estearato de glicerilo PEG-20, oleato de glicerilo PEG-20, oleato de glicerilo PEG-30, laurato de glicerilo PEG-30, laurato de glicerilo PEG-40, aceite de almendra de palma PEG-40, aceite de ricino hidrogenado PEG-50, aceite de ricino PEG-40, aceite de ricino PEG-35, aceite de ricino PEG-60, aceite de ricino hidrogenado PEG-40, aceite de ricino hidrogenado PEG-60, aceite de maíz PEG-60, glicéridos de caprato/capilato de PEG-6, glicéridos de caprato/capilato de PEG-8, laurato de poligliceril-10, colesterol de PEG-30, fitoesteroides de PEG-25, esteroil de soja PEG-30, trioleato de PEG-20, oleato de sorbitán PEG-40, laurato de sorbitán PEG-80, poli sorbato 20, polisorbato 80, POE-9 lauril éter, POE-23 lauril éter, POE-10 oleil éter, POE-20 oleil éter, POE-20 estearil éter, tocoferil PEG-100 succinato, PEG-24 colesterol, poligliceril-IOleato, Tween 40, Tween 60, monoestearato de sacarosa, monolaurato de sacarosa, monopalmitato de sacarosa, serie PEG10-100 nonilfenol, serie PEG15-100 octilfenol y poloxámeros.

[0147] Los tensioactivos lipófilos adecuados incluyen, a modo de ejemplo solamente: alcoholes grasos; ésteres de ácido graso y glicerol; ésteres de ácido graso de glicerol acetilado; ésteres de ácidos grasos con bajo contenido de alcohol; ésteres de ácido graso de propilenglicol; ésteres de ácido graso de sorbitán; ésteres de ácido graso de polietilenglicol sorbitano; esteroides y derivados de esteroides; esteroides polioxietilados y derivados de esteroides; polietilenglicol alquil éteres; ésteres de azúcar; ésteres de azúcar; derivados de ácido láctico de mono y diglicéridos; productos de transesterificación hidrofóbos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides; vitaminas solubles en aceite/derivados de vitaminas; y mezclas de los mismos. Dentro de este grupo, los tensioactivos lipofílicos incluyen ésteres de ácido graso de glicerol, ésteres de ácido graso de propilenglicol y mezclas de los mismos, o son productos de transesterificación hidrofóbos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados y triglicéridos.

[0148] Los tensioactivos pueden usarse en cualquier formulación de la invención en los que su uso no se contradice. En algunas realizaciones de la invención, es deseable el uso de ningún tensioactivo o clases limitadas de tensioactivos. Las formulaciones tópicas de acuerdo con la invención pueden contener ningún, o sustancialmente ningún tensioactivo, es decir, contener menos de aproximadamente 0,0001% en peso de agentes tensioactivos. Este es

particularmente el caso si se emplea una cromona como se describió anteriormente. Sin embargo, si se desea, las formulaciones pueden contener agentes tensioactivos empleados convencionalmente en formulaciones tópicas, tales como ácido oleico, lecitina, trioleato de sorbitán, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio (20), monolaurato de sorbitán polioxietileno (20), monoestearato de sorbitán polioxietileno de monooleato de sorbitán (20), copolímeros de bloque de polioxipropileno/polioxietileno, copolímeros de bloque de polioxipropileno/polioxietileno/etilendiamina y aceite de ricino etoxilado, donde la proporción de agentes tensioactivos, si están presentes, puede ser de aproximadamente 0,0001 a 1% en peso, en particular, aproximadamente 0,001 a 0,1% en peso, basado en la formulación total. Un experto en la materia conocerá otros agentes tensioactivos/emulsionantes adecuados y se enumeran en el CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook, vol. 2, 7ª Edición (1997).

[0149] Otros vehículos acuosos adecuados incluyen, pero no se limitan a, solución de Ringer y cloruro de sodio isotónico. Las suspensiones acuosas pueden incluir agentes de suspensión tales como derivados de celulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y goma de tragacanto, y un agente humectante como lecitina. Los conservantes adecuados para suspensiones acuosas incluyen p-hidroxibenzoato de etilo y n-propilo.

[0150] Los agentes quelantes que se pueden utilizar para formar composiciones y formas de dosificación de la invención farmacéutica incluyen, pero no se limitan a, ácido diaminotetraacético de etileno (EDTA), EDTA disódico, edetato de calcio disódico, EDTA trisódico, albúmina, transferrina, desferoxamina, desferal, mesilato de desferoxamina, EDTA tetrasódico y EDTA dipotasio, metasilicato de sodio o combinaciones de cualquiera de estos. En algunas realizaciones, se agrega hasta aproximadamente 0,1% P/V de un agente quelante, tal como EDTA o sus sales, a las formulaciones de la invención.

[0151] Los conservantes que pueden utilizarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero no se limitan a, purita, peróxidos, perboratos, imidazolidinil urea, diazolidinil urea, fenoxietanol, cloruros alconio incluyendo cloruros de benzalconio, metilparabeno, etilparabeno y propilparabeno. En otras realizaciones, los conservantes adecuados para las composiciones de la invención incluyen: cloruro de benzalconio, purita, peróxidos, perboratos, timerosal, clorobutanol, metil paraben, propil paraben, feniletil alcohol, edetato disódico, ácido sórbico, Onámero M u otros agentes conocidos por los expertos en la materia. En algunas realizaciones de la invención, dichos conservantes pueden emplearse a un nivel de 0,004% a 0,02% p/v. En algunas composiciones de la presente solicitud, el conservante, por ejemplo, cloruro de benzalconio, metil parabeno y/o propil parabeno, puede emplearse a un nivel de aproximadamente 0,001% a menos de aproximadamente 0,01%, por ejemplo, de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 0,008%, o aproximadamente 0,005% p/v. Se ha encontrado que una concentración de cloruro de benzalconio de aproximadamente el 0,005% puede ser suficiente para preservar las composiciones de la presente invención del ataque microbiano. Un experto en la materia podría determinar la concentración adecuada de ingredientes, así como las combinaciones de varios ingredientes para generar una formulación tópica adecuada. Por ejemplo, las gotas oftálmicas o formulaciones para la aplicación en la piel pueden usar una mezcla de metil y propil parabenos a aproximadamente 0,02% P/V y aproximadamente 0,04% P/V respectivamente. En algunas realizaciones, estas formulaciones usan metilparabeno y/o propilparabeno en cantidades de hasta aproximadamente 0,02% p/v y hasta aproximadamente 0,04% p/v respectivamente, que abarca las realizaciones donde no se usa metilparabeno o propilparabeno.

[0152] Los lubricantes que pueden utilizarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero no se limitan a, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, lauril sulfato de sodio, talco, aceite vegetal hidrogenado (p. ej., aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de zinc, oleato de etilo, laureato de etilo, agar, o mezclas de los mismos.

[0153] Los agentes espesantes que pueden ser usados para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero no se limitan a, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, el neopentanoato de isodecilo, escualeno, aceite mineral, C₁₂-C₁₅ benzoato y polisisobuteno hidrogenado. Pueden ser deseables aquellos agentes que no alterarían otros compuestos del producto final, tales como agentes espesantes no iónicos. La selección de agentes espesantes adicionales está dentro de la habilidad de un experto en la técnica.

[0154] Agentes acondicionadores de la piel pueden ser emolientes, humectantes e hidratantes. Un humectante es un agente humectante que promueve la retención de agua debido a sus propiedades higroscópicas. Los agentes acondicionadores de la piel adecuados incluyen urea; guanidina; Aloe vera; ácido glicólico y sales de glicolato tales como amonio y alquilamonio cuaternario; ácido láctico y sales de lactato tales como lactato de sodio, lactato de amonio y lactato de alquilamonio cuaternario; polihidroxi alcoholes tales como sorbitol, glicerol, manitol, xilitol, hexantriol, propilenglicol, butilenglicol, hexilenglicol, glicoles poliméricos tales como polietilenglicol y polipropilenglicol; carbohidratos tales como glucosa alcoxilada; almidones derivados de almidón; glicerina; ácido carboxílico de pirrolidona (PCA); lactamida monoetanolamina; acetamida monoetanolamina; aceites de silicona volátiles; aceites de silicona no volátiles; y mezclas de los mismos. Los aceites de silicona adecuados pueden ser polidialquilsiloxanos, polidialquilsiloxanos, polialcarilsiloxanos y ciclometiconas que tienen de 3 a 9 átomos de silicio.

[0155] Un emoliente es una sustancia oleaginosa u oleosa que ayuda a suavizar la piel, y también puede reducir su

aspereza, agrietamiento o irritación. Los emolientes adecuados típicos incluyen aceite mineral que tiene una viscosidad en el intervalo de 50 a 500 centipoises (cps), aceite de lanolina, aceite de coco, manteca de cacao, aceite de oliva, aceite de almendras, aceite de nuez de macadamia, extractos de aloe como aloe vera lipoquinona, aceites de jojoba sintética, aceites de jojoba sonora natural, aceite de cártamo, aceite de maíz, lanolina líquida, aceite de semilla de algodón y aceite de maní. En algunas realizaciones, el emoliente es un cocoglicérido, que es una mezcla de mono, di y triglicéridos de aceite de cacao, vendido bajo el nombre comercial de Myritol 331 de Henkel KGaA, o Dicaprililo Éter disponible bajo el nombre comercial Cetiol OE de Henkel KGaA o un benzoato de alquilo C₁₂-C₁₅ vendido bajo el nombre comercial Finsolv TN de Finetex. Otro emoliente adecuado es DC 200 Fluid 350, un fluido de silicona, disponible de Dow Corning Corp.

[0156] Otros emolientes adecuados incluyen escualano, aceite de ricino, polibuteno, aceite de almendras dulces, aceite de aguacate, aceite de calophyllum, aceite de ricina, acetato de vitamina E, aceite de oliva, aceites de silicona tales como dimetilpolisiloxano y ciclometicona, alcohol linolénico, alcohol oleílico, el aceite de gérmenes de cereales como el aceite de germen de trigo, palmitato de isopropilo, palmitato de octilo, miristato de isopropilo, estearato de hexadecilo, estearato de butilo, oleato de decilo, acetil glicéridos, octanoatos y benzoatos de alcoholes (C₁₂-C₁₅), octanoatos y decanoatos de alcoholes y polialcoholes como los de glicol y glicerilo, ésteres de ricinoleatos como adipato de isopropilo, laurato de hexilo y dodecanoato de octilo, maleato de dicaprililo, aceite vegetal hidrogenado, feniltrimeticona, aceite de jojoba y extracto de aloe vera.

[0157] Otros emolientes adecuados que son sólidos o semisólidos a temperatura ambiente pueden ser utilizados. Tales emolientes cosméticos sólidos o semisólidos incluyen dilaurato de glicerilo, lanolina hidrogenada, lanolina hidroxilada, lanolina acetilada, vaselina, lanolato de isopropilo, miristato de butilo, miristato de cetilo, miristato de miristilo, miristil lactato, alcohol cetílico, alcohol isoestearílico e isocetil lanolato. Uno o más emolientes se pueden incluir opcionalmente en la formulación.

[0158] Los antioxidantes que se pueden utilizar para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero no se limitan a, propilo, octilo y ésteres de dodecilo de ácido gálico, hidroxianisol butilado (BHA, normalmente adquiridos como una mezcla de orto y metaisómeros), extracto de té verde, ácido úrico, cisteína, piruvato, ácido nordihidroguareético, ácido ascórbico, sales de ácido ascórbico como el palmitato de ascorbilo y ascorbato de sodio, ascorbilglucosamina, vitamina E (es decir, tocoferoles como el α -tocoferol), derivados de la vitamina E (p. ej., acetato de tocoferilo), retinoides como el ácido retinoico, retinol, trans-retinol, cis-retinol, mezclas de trans-retinol y cis-retinol, 3-deshidroretinol y derivados de la vitamina A (p. ej., acetato de retinilo, palmitato de retina y retinilo, también conocido como palmitato de tetinilo), citrato de sodio, sulfito de sodio, licopeno, antocianidos, bioflavonoides (por ejemplo, hesperitina, naringen, rutina y quercetina), dismutasa de superóxido, peroxidasa de glutatión, hidroxitolueno butilado (BHT), indol-3-carbinol, picnogenol, melatonina, sulfurafano, pregnenolona, ácido lipoico y 4-hidroxi-5-metil-3[2H]-furanona.

[0159] Agentes protectores de la piel son agentes que protegen la piel contra los irritantes químicos y/o irritantes físicos, por ejemplo, luz UV, incluyendo protectores solares, aditivos anti-acné, anti-arrugas y agentes anti-atrofia de la piel. Los protectores solares adecuados como agentes protectores de la piel incluyen 2-etilhexil p-metoxicinamato, 2-etilhexil N,N-dimetil-p-aminobenzoato, ácido p-aminobenzoico, ácido 2-fenilbencimidazol-5-sulfónico, octocrileno, oxibenzona, salicilato de homomentilo, salicilato de octilo, 4,4'-metoxi-t-butildibenzoilmetano, 4-isopropil dibenzoilmetano, 3-bencilideno alcanfor, 3-(4-metilbenciliden) alcanfor, antianilatos, dióxido de titanio ultrafino, óxido de zinc, óxido de hierro, sílice, 4-N,N-(2-etilhexil)-éster del ácido metilaminobenzoico de 2,4-dihidroxibenzofenona, 4-N,N-(2-etilhexil)-éster del ácido metilaminobenzoico con 4-hidroxidibenzoilmetano, 4-N,N-(2-etilhexil)-éster de metilaminobenzoico 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)benzofenona y 4-N,N-(2-etilhexil)-éster del ácido metilaminobenzoico de 4-(2-hidroxietoxi) dibenzoilmetano. Agentes antiacné adecuados incluyen ácido salicílico; 5-octanoil ácido salicílico; resorcinol; retinoides tales como ácido retinoico y sus derivados; aminoácidos D y L que contienen azufre distintos de la cisteína; ácido lipoico; antibióticos y antimicrobianos como peróxido de benzoilo, octopirox, tetraciclina, 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifeniléter, 3,4,4'-triclorobanilida, ácido azelaico, fenoxietanol, fenoxipropanol, fenoxisopropanol, acetato de etilo, clindamicina y melclociclina; flavonoides; y sales biliares tales como sulfato de scymnol, desoxicolato y colato. Ejemplos de agentes antiarrugas y antiatrofia de la piel son el ácido retinoico y sus derivados, retinol, ésteres de retinilo, ácido salicílico y sus derivados, aminoácidos D y L que contienen azufre, excepto cisteína, alfa-hidroxiácidos (p. ej., ácido glicólico y ácido láctico), ácido fítico, ácido lipoico y ácido lisofosfatídico.

[0160] Las formulaciones también pueden contener aditivos mitigantes de la irritación para minimizar o eliminar la posibilidad de irritación de la piel o daño de la piel como resultado de la base potenciadora de la penetración u otros componentes de la composición. Los aditivos adecuados para mitigar la irritación incluyen, por ejemplo: α -tocoferol; inhibidores de monoaminoxidasa, particularmente fenil alcoholes tales como 2-fenil-1-etanol; glicerina; ácidos salicílicos y salicilatos; ácidos ascórbicos y ascorbatos; ionóforos tales como monensina; aminas anfífilas; cloruro amónico; N-acetilcisteína; ácido cis-urocanico; capsaicina; y cloroquina. El aditivo mitigante de la irritación, si está presente, puede incorporarse a las formulaciones presentes en una concentración eficaz para mitigar la irritación o el daño de la piel, que típicamente representa no más de aproximadamente 20% en peso, más típicamente no más de aproximadamente 5% en peso, de la composición.

[0161] Un modificador de sensación seca es un agente que cuando se agrega a una emulsión, imparte una "sensación

seca" a la piel cuando la emulsión se seca. Los modificadores de sensación seca pueden incluir talco, caolín, tiza, óxido de zinc, fluidos de silicona, sales inorgánicas como sulfato de bario, sílice tratada en la superficie, sílice precipitada, sílice pirógena como un Aerosil disponible de Degussa Inc. de Nueva York, NY. EE.UU. Otro modificador es un almidón de glicerilo reticulado con epiclorhidrina del tipo que se describe en la patente de EE.UU. N° 6,488,916.

[0162] También se pueden agregar otros agentes, tales como agentes antimicrobianos, para evitar el deterioro después del almacenamiento, es decir, para inhibir el crecimiento de microbios tales como levaduras y mohos. Los agentes antimicrobianos adecuados se seleccionan típicamente del grupo que consiste en los ésteres de metilo y propilo del ácido p-hidroxibenzoico (es decir, metil y propil parabeno), benzoato de sodio, ácido sórbico, imidurea, purita, peróxidos, perboratos y combinaciones de los mismos.

[0163] La formulación también puede contener un agente estético. Ejemplos de agentes estéticos incluyen fragancias, pigmentos, colorantes, aceites esenciales, sensaciones de la piel y astringentes. Los agentes estéticos adecuados incluyen aceite de clavo, mentol, alcanfor, aceite de eucalipto, eugenol, lactato de metilo, bisabolol, destilado de hamamelis y extracto de té verde.

[0164] Las fragancias son sustancias aromáticas que pueden impartir un aroma agradable estéticamente. Las fragancias típicas incluyen materiales aromáticos extraídos de fuentes botánicas (es decir, pétalos de rosa, flores de gardenia, flores de jazmín, etc.) que se pueden usar solos o en cualquier combinación para crear aceites esenciales. Alternativamente, se pueden preparar extractos alcohólicos para mezclar fragancias. Sin embargo, debido a los costos relativamente altos de obtener fragancias a partir de sustancias naturales, la tendencia moderna es usar fragancias preparadas sintéticamente, particularmente en productos de alto volumen. Opcionalmente, se pueden incluir una o más fragancias en la composición de protector solar en una cantidad que varía de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 5 por ciento en peso, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 por ciento en peso. También se pueden usar conservantes adicionales si se desea e incluyen composiciones conservantes bien conocidas tales como alcohol bencílico, alcohol fenílico y ácido benzoico, diazolidinilo, urea, clorfenesina, yodopropinilo y carbamato de butilo, entre otros.

Potenciadores de la penetración tópica

[0165] El suministro de fármacos por vía tópica a la piel proporciona muchas ventajas. Para el paciente, es cómodo, conveniente y no invasivo. Se pueden evitar las tasas variables de absorción y metabolismo posiblemente encontradas en el tratamiento oral, y se eliminan otros inconvenientes inherentes (por ejemplo, irritación gastrointestinal, la necesidad de administración con alimentos en algunos casos o sin alimentos en otros casos). Tal tratamiento localizado evita incurrir en altos niveles de drogas sistémicas y posibles efectos adversos que podrían seguir, es decir, inhibición de LFA-1 en otros procesos biológicos.

[0166] La administración tópica de fármacos en la piel, sin embargo, suele ser un desafío. La piel es una membrana estructuralmente compleja y relativamente gruesa. Las moléculas que se mueven del ambiente hacia y a través de la piel intacta deben penetrar primero en el estrato córneo y cualquier material en su superficie. El estrato córneo es una capa de aproximadamente 10-15 micrómetros de espesor sobre la mayor parte del cuerpo que consiste en células densas y altamente queratinizadas. Se cree que el alto grado de queratinización dentro de estas células, así como su denso empaquetamiento, son los factores más responsables de crear, en la mayoría de los casos, una barrera sustancialmente impermeable a la penetración del fármaco. Con muchos medicamentos, la tasa de penetración a través de la piel es extremadamente baja sin el uso de algún medio para mejorar la permeabilidad de la piel. Como el estrato córneo de muchas dermatosis inflamatorias es comúnmente más grueso que el de la piel normal, la penetración de fármacos tópicos en las áreas afectadas de la piel es particularmente difícil de lograr.

[0167] Para aumentar el grado y la velocidad a la que un fármaco penetra en la piel, se han seguido varios enfoques, cada uno de los cuales implica el uso de un potenciador de penetración química o un potenciador de penetración física. Las mejoras físicas de la permeación de la piel incluyen, por ejemplo, técnicas electroforéticas como la iontoforesis. El uso de ultrasonidos (o "fonoforesis") como un potenciador de la penetración física también ha sido investigado. Los potenciadores de penetración química se usan más comúnmente. Estos son compuestos que se administran tópicamente junto con un fármaco (o, en algunos casos, antes de la administración del fármaco) para aumentar la permeabilidad del estrato córneo y, por lo tanto, proporcionar una penetración mejorada del fármaco a través de la piel. Idealmente, dichos potenciadores de penetración química (o "potenciadores de permeación", como se hace referencia a los compuestos en el presente documento) son compuestos que son inocuos y sirven simplemente para facilitar la difusión del fármaco a través del estrato córneo.

[0168] En la técnica se conocen diversos compuestos para mejorar la permeabilidad de la piel y se describen en los textos y la literatura pertinentes. Los compuestos que se han utilizado para mejorar la permeabilidad de la piel incluyen: sulfóxidos tales como dimetilsulfóxido (DMSO) y decilmethylsulfóxido (C₁₀MSO); éteres tales como dietilenglicol monoetil éter (disponible comercialmente como Transcutol®) y dietilenglicol monometil éter; tensioactivos tales como laurato de sodio, laurilsulfato de sodio, bromuro de cetiltrimetilamonio, cloruro de benzalconio, Poloxámero (231, 182, 184), Tween (20, 40, 60, 80) y lecitina (Patente de Estados Unidos N° 4,783,450); azacicloheptan-2-onas 1-sustituidas, particularmente 1-n-dodecilciclazacicloheptan-2-ona (disponible bajo la marca registrada Azone.RTM. de Nelson

Research & Development Co., Irvine, Calif.; véanse las patentes de los Estados Unidos N^{os} 3,989,816, 4,316,893, 4,405,616 y 4,557,934); alcoholes tales como etanol, propanol, octanol y alcohol bencílico; ácidos grasos tales como ácido láurico, ácido oleico y ácido valérico; ésteres de ácidos grasos tales como miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, propionato de metilo y oleato de etilo; polioles y sus ésteres, tales como propilenglicol, etilenglicol, glicerol, butanodiol, polietilenglicol y monolaurato de polietilenglicol (PEGML; véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos Núm. 4,568,343); amidas y otros compuestos nitrogenados tales como urea, dimetilacetamida (DMA), dimetilformamida (DMF), 2-pirrolidona, 1-metil-2-pirrolidona, etanolamina, dietanolamina y trietanolamina; terpenos alcanos; y ácidos orgánicos, particularmente ácido salicílico y salicilatos, ácido cítrico y ácido succínico. El libro Percutaneous Penetration Enhancers (Smith et al., editors, CRC Press, 1995) proporciona una excelente visión general del campo y más información de antecedentes sobre una serie de potenciadores químicos y físicos.

[0169] Durante mucho tiempo se pensó que las bases fuertes, como NaOH, no eran adecuadas como potenciadores de la permeación porque dañarían la piel. Ahora se ha descubierto que la permeabilidad de la piel de varios medicamentos podría mejorarse sin dañar la piel exponiendo la piel a una base o solución básica, en una formulación o parche en contacto con la piel. El pH deseado de la solución en la piel se puede obtener usando una variedad de bases o concentraciones de bases. En consecuencia, el pH se selecciona para que sea lo suficientemente bajo como para no causar daño a la piel, pero lo suficientemente alto como para mejorar la penetración de la piel a varios agentes activos. Como tal, es importante que la cantidad de base en cualquier parche o formulación se optimice para aumentar el flujo del medicamento a través de la superficie del cuerpo mientras se minimiza cualquier posibilidad de daño a la piel. En general, esto significa que el pH en la superficie del cuerpo en contacto con una formulación o sistema de administración de fármacos de la invención puede estar en el rango de aproximadamente pH 8,0 a aproximadamente pH 13,0, aproximadamente pH 8,0 a aproximadamente pH 11,5, aproximadamente pH 8,5 a aproximadamente pH 11,5, o aproximadamente pH 8,5 a aproximadamente pH 10,5. En algunas realizaciones, el pH está en el intervalo de aproximadamente pH 9,5 a aproximadamente pH 11,5, o aproximadamente pH 10,0 a aproximadamente pH 11,5.

[0170] En una realización, el pH en la superficie de la piel es la consideración principal del diseño, es decir, la composición o sistema está diseñado para proporcionar el pH deseado en la superficie de la piel. Las formulaciones anhidras y los sistemas transdérmicos pueden no tener un pH medible, y la formulación o el sistema pueden diseñarse para proporcionar un pH diana en la superficie de la piel. La humedad de la superficie del cuerpo puede migrar a la formulación o sistema, disolver la base y liberar la base en solución, que luego proporcionará el pH diana deseado a la superficie del cuerpo. En esos casos, una composición hidrofílica puede ser deseable. Además, cuando se usan formulaciones acuosas, el pH de la formulación puede cambiar con el tiempo después de aplicarse sobre la piel. Por ejemplo, los geles, soluciones, ungüentos, etc., pueden experimentar una pérdida neta de humedad después de aplicarse a la superficie del cuerpo, es decir, la cantidad de agua perdida es mayor que la cantidad de agua recibida de la superficie del cuerpo. En ese caso, el pH de la formulación puede ser diferente a su pH cuando se fabrica. Este problema se puede remediar fácilmente diseñando las formulaciones acuosas para proporcionar un pH diana en la superficie del cuerpo.

[0171] En otras realizaciones de la invención, el pH de la formulación o la composición del fármaco contenida dentro de un sistema de administración estará en el rango de aproximadamente pH 8,0 a aproximadamente pH 13,0, aproximadamente pH 8,0 a aproximadamente pH 11,5, aproximadamente pH 8,5 a aproximadamente pH 11,5, o aproximadamente pH 8,5 a aproximadamente pH 10,5. En algunas realizaciones, el pH estará en el intervalo de aproximadamente pH 9,5 a aproximadamente pH 11,5, o aproximadamente pH 10,0 a aproximadamente pH 11,5. En una realización de la invención, el pH de la formulación es más alto que el pH en la superficie del cuerpo. Por ejemplo, si se usa una formulación acuosa, la humedad de la superficie del cuerpo puede diluir la formulación y, por lo tanto, proporcionar un pH diferente en la superficie del cuerpo, que típicamente será más bajo que el de la formulación misma.

[0172] En una realización, la superficie del cuerpo se expone a una base o solución básica durante un período de tiempo suficiente para proporcionar un pH alto en la superficie de la piel, creando así canales en la piel o la mucosa para que el fármaco pase. Se espera que el flujo del fármaco sea proporcional a la concentración de la solución y la duración de la exposición. Sin embargo, es deseable equilibrar la maximización del flujo de drogas con la minimización del daño de la piel. Esto se puede hacer de muchas maneras. Por ejemplo, el daño a la piel puede minimizarse seleccionando un pH más bajo dentro del rango de 8,0 a 13,0, exponiendo la piel a la formulación o al sistema por un período de tiempo más corto, o incluyendo al menos un aditivo para mitigar la irritación. Alternativamente, se puede recomendar al paciente que cambie la ubicación de la aplicación con cada administración posterior.

[0173] Si bien ciertas cantidades se exponen a continuación, se entiende que, para todas las bases inorgánicas y orgánicas descritas en este documento, la cantidad óptima de cualquiera de tales bases dependerá de la fuerza o debilidad de la base y su peso molecular, y otros factores, como el número de sitios ionizables en el agente activo que se administra y si hay especies ácidas presentes en la formulación o parche. Un experto en la materia puede determinar fácilmente la cantidad óptima para cualquier base particular de manera que se optimice el grado de mejora mientras se elimina la posibilidad de daño a la superficie del cuerpo o al menos se minimiza sustancialmente.

[0174] Bases inorgánicas ejemplares son hidróxidos inorgánicos, óxidos inorgánicos, sales inorgánicas de ácidos débiles, y combinaciones de los mismos. Algunas bases inorgánicas son aquellas cuyas soluciones acuosas tienen

un pH alto y son aceptables como aditivos alimentarios o farmacéuticos. Ejemplos de tales bases inorgánicas incluyen hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio, óxido de magnesio, óxido de calcio, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, acetato de sodio, borato de sodio, metaborato de sodio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, fosfato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de potasio, citrato de potasio, acetato de potasio, fosfato de potasio y fosfato de amonio y combinaciones de los mismos.

[0175] Hidróxidos inorgánicos incluyen, por ejemplo, hidróxido de amonio, hidróxido de metal alcalino y hidróxidos metálicos alcalinotérreos, y mezclas de los mismos. Algunos hidróxidos inorgánicos incluyen hidróxido de amonio; hidróxidos monovalentes de metales alcalinos tales como hidróxido de sodio e hidróxido de potasio; hidróxidos divalentes de metales alcalinotérreos tales como hidróxido de calcio e hidróxido de magnesio; y combinaciones de los mismos.

[0176] La cantidad de hidróxido inorgánico incluida en las composiciones y sistemas de la invención representará típicamente aproximadamente 0,3-7,0% P/V, aproximadamente 0,5-4,0% P/V, aproximadamente 0,5-3,0% P/V, o aproximadamente 0,75 -2,0% P/V de una formulación aplicada tópicamente o de un depósito de drogas de un sistema de administración de drogas, o parche.

[0177] Óxidos inorgánicos incluyen, por ejemplo, óxido de magnesio y óxido de calcio.

[0178] La cantidad de óxido inorgánico incluido en las composiciones y los sistemas de la invención pueden ser sustancialmente más altos que los números establecidos anteriormente para el hidróxido inorgánico, y puede ser tan alta como 20% en peso, en algunos casos como de hasta 25% en peso o superior, pero generalmente estará en el rango de aproximadamente 2-20% en peso. Estas cantidades pueden ajustarse para tener en cuenta la presencia de cualquier especie neutralizable en base.

[0179] Las sales inorgánicas de ácidos débiles incluyen, fosfato de amonio (dibásico); sales de metales alcalinos de ácidos débiles como acetato de sodio, borato de sodio, metaborato de sodio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, fosfato de sodio (tribásico), fosfato de sodio (dibásico), carbonato de potasio, bicarbonato de potasio, citrato de potasio, acetato de potasio, fosfato de potasio (dibásico), fosfato de potasio (tribásico); sales de metales alcalinotérreos de ácidos débiles tales como fosfato de magnesio y fosfato de calcio; y combinaciones de los mismos.

[0180] Las bases orgánicas adecuadas para usar en la invención son compuestos que tienen un grupo amino, grupo amido, una oxima, un grupo ciano, un heterociclo que contiene nitrógeno aromático o no aromático, un grupo urea y combinaciones de los mismos. Más específicamente, los ejemplos de bases orgánicas adecuadas son bases nitrogenadas, que incluyen, pero no se limitan a, aminas primarias, aminas secundarias, aminas terciarias, amidinas, guanidinas, hidroxilaminas, ciano guanidinas, cianoamidinas, oximas, grupos que contienen ciano ($-\text{CN}$), heterociclos que contienen nitrógeno aromático y no aromático, urea y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, las bases orgánicas son aminas primarias, aminas secundarias, aminas terciarias, heterociclos que contienen nitrógeno aromático y no aromático, y mezclas de los mismos.

[0181] Para todas las bases que mejoran la permeación en el presente documento, la cantidad óptima de cualquier agente particular dependerá de la resistencia o debilidad de la base, el peso molecular de la base y otros factores como el número de sitios ionizables en el medicamento administrado y cualquier otra especie ácida en la formulación o parche. Un experto en la materia puede determinar fácilmente la cantidad óptima para cualquier agente particular asegurándose de que una formulación sea efectiva para proporcionar un pH en la superficie de la piel, tras la aplicación de la formulación, en el intervalo de aproximadamente pH 7,5 a aproximadamente pH 13,0, aproximadamente pH 8,0 a aproximadamente pH 11,5, o aproximadamente pH 8,5 a aproximadamente pH 10,5. En algunas realizaciones, el pH estará en el intervalo de aproximadamente pH 9,5 a aproximadamente pH 11,5, o aproximadamente pH 10,0 a aproximadamente pH 11,5. Esto a su vez asegura que el grado de tratamiento se maximiza, mientras que la posibilidad de daño a la superficie del cuerpo se elimina o al menos se minimiza sustancialmente.

[0182] En el caso de la administración intranasal, tales soluciones o suspensiones pueden ser isotónicas con respecto a las secreciones nasales y aproximadamente el mismo pH, que varía, por ejemplo, de aproximadamente pH 4,0 a aproximadamente pH 7,4 o de aproximadamente pH 6,0 a aproximadamente pH 7,0. Los tampones deben ser fisiológicamente compatibles e incluir, simplemente a modo de ejemplo, tampones de fosfato. Por ejemplo, se describe que un descongestionante nasal representativo está tamponado a un pH de aproximadamente 6,2 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16ª edición, Ed. Arthur Osol, página 1445 (1980)). Un experto en la materia puede determinar fácilmente un contenido de solución salina y un pH adecuados para una solución acuosa inocua para la administración nasal y/o respiratoria superior. Un ejemplo de una formulación adecuada para administración intranasal es una solución acuosa tamponada a un pH de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,0 con fosfato de sodio, monobásico, que comprende aproximadamente 1% p/v del antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente 0,1% p/v EDTA y, opcionalmente, hasta aproximadamente 0,4% p/p de metilparabeno y hasta aproximadamente 0,02% p/p de propilparabeno.

[0183] Los expertos en la técnica del suministro de fármacos tópicos conocerán potenciadores de permeación adicionales, y/o se describen en los textos y la literatura pertinentes. Véanse, por ejemplo, Percutaneous Penetration

[0184] En una realización, los métodos de la divulgación implican la administración de uno o más fármacos adicionales para el tratamiento de trastornos inmunes relacionados. Se pueden usar combinaciones de agentes para tratar trastornos mediados por LFA-1 o para modular los efectos secundarios de uno o más agentes en la combinación. En algunos casos, los eventos patológicos en este estado de enfermedad están marcados por una combinación de autoregulación deteriorada, apoptosis, isquemia, neovascularización y estímulos inflamatorios, puede ser deseable administrar los antagonistas de LFA-1 de la divulgación en combinación con otros agentes terapéuticos para intervienen adicional o sinérgicamente. En algunas realizaciones, el segundo agente terapéutico es un antioxidante, agente antiinflamatorio, antimicrobiano que incluye antibacteriano, antihistamínico, estabilizador de mastocitos, agentes antivirales y antifúngicos, agente antiangiogénico, agente antiapoptótico, lubricante y/o secretagogo. En algunas realizaciones de la divulgación, además de administrar un compuesto que compite directamente por la unión a LFA-1, se puede administrar un agente terapéutico adicional que es un antagonista alostérico, pero no directamente competitivo, de LFA-1 como se discutió anteriormente, potencialmente resultando en eficacia sinérgica. Un ejemplo de tal antagonista alostérico es la clase de inhibidores de hidantoína de LFA-1. (Véase, por ejemplo, Keating et al., Protein Science, 15, 290-303, (2006)).

[0186] La inflamación es inducida por el proceso de adhesión de leucocitos y neovascularización. Por lo tanto, se pueden administrar otros agentes antiinflamatorios en combinación, antes, después o concomitantemente con los antagonistas de LFA-1 de la divulgación. Los agentes anti-inflamatorios se pueden elegir de fármacos relacionados con los corticosteroides, incluyendo, pero no limitado a la dexametasona, fluorometalona, medrisona, betametasona, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, prednisona, prednisolona, hidrocortisona, rimexolona, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, prednicarbo, deflazacort, halometasona, tixocortol, prednilideno, prednhal, parametasona, metilprednisolona, meprednisona, mazipredona, isoflupredona, acetato de halopredona, halcinonida, formocortol, flurandrenólido, fluprednisolona, acetato de fluprednidina, acetato de fluprerolona, fluocortolona, fluocortina butilo, fluocinonida, acetona de fluocinolona, flunisolida, flumetasona, fludrocortisona, fluclozinide, enoxolona, difluprednato, diflucortolona, diacetato de diflorasona, desoximetasona (desoximetasona), desonida, descinolona, cortivazol, corticosterona, cortisona, cloprednol, clocortolona, clobetasona, clobetasol, cloroprednisona, cafestol, budesonida, beclometasona, amcinonida, acetona de alopregnano, alclometasona, 21-acetoxipregnenolona, tralonida, acetato de diflorasona, deacilcortivazol, RU-26988, budesonida y deacilcortivazol. Además, los agentes antiinflamatorios incluyen compuestos de 5-aminosalicilato (5-ASA), como sulfasalzina (Azulfidina), osalazina (Dipentum) y mesalamina (los ejemplos incluyen Pentasa, Asacol, Dipentum, Colazal, Rowasa enema y supositorio de Canasa). De manera similar, los agentes antiinflamatorios se pueden elegir entre los fármacos relacionados con la ciclosporina (p. ej. antagonista de la calcineurina), incluidos, entre otros, miembros de la familia de la ciclosporina y otros antagonistas de la calcineurina relacionados, incluidos sirolimus, tacrolimus y pimecrolimus. Alternativamente, los agentes antiinflamatorios pueden elegirse entre el grupo de los AINE incluyen pero no se limitan a acetaminofeno, acemetacina, aceclofenaco, alminoprofeno, amfenaco, bendazaco, benoxaprofeno, bromfenaco, ácido buclórico, butibufeno, carprofeno, celecoxib, cinmetacina, clopirac, diclofenac, etodolac, etoricoxib, felbinaco, ácido fenclórico, fenbufeno, fenoprofeno, fentiazaco, flunoxaprofeno, flurbiprofeno, ibufenaco, ibuprofeno, indometacina, isofezolaco, isoxicam, isoxepaco, indoprofeno, ketoprofeno, lonazolaco, loxoprofeno, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, meloxicam, ácido metiazínico, mofezolac, miroprofeno, naproxeno, niflumico, oxaprozina, pirozolac, pirprofeno, pranoprofeno, ácido protizínico, rofecoxib, ácido salicílico y sus derivados (es decir, aspirina), sulindac, suprofeno, suxibuzona, ácido triaprofénico, tolmetin, valdeco, xoprofen, valmetin, valdeco, valdeco, valdecoc, valdecoc, valdeco, valmeco, zaltoprofeno, zomepirac, aspirina, acemetacina, bumadizon, carprofenaco, clidanac, diflunisal, ácido enfenámico, fendosal, ácido flufenámico, flunixinina, ácido genticico, ketorolaco, mesalamina y profármacos de los mismos. Además, se pueden usar inmunomoduladores como 6-mercaptopurina (6-MP), azatioprina (Imuran), metotrexato (Rheumatrex, Trexall), infliximab (Remicade) y adalimumab (Humira).

de clemastina, clorhidrato de ciproheptadina, desloratadina, dextbromfeniramina maleato, dexclorfeniramina maleato, dimenhidriunato, clorhidrato de difenhidramina, difumarato de emedastina, clorhidrato de fexofenadina, hidrocloreto de hidroxizina, fumarato de ketotifeno, loratadina, clorhidrato de meclizina, clorhidrato de olopatadina, tartrato de fendamdamina, quetiapina, citrato de tripelenamina, clorhidrato de tripelenamina e hidrocloreto de triprolidina. En algunas realizaciones de la divulgación, las formulaciones administradas por vía nasal o al ojo incluyen uno o más antihistamínicos.

[0188] Una clase de agentes terapéuticos que pueden ser útiles para la administración en combinación, antes, después o concomitantemente con los antagonistas de LFA-1 de la descripción son los estabilizadores de mastocitos tales como sodio de cromolino y nedocromilo.

[0189] El estrés oxidativo puede ser inducido en células con procesos autoregulatorios deteriorados y procesos isquémicos inducidos por trastorno inmune de mediación por LFA-1. Por lo tanto, los antioxidantes pueden ser útiles para administrar en combinación, antes, después o concomitantemente con los antagonistas de LFA-1 de la divulgación. Los ejemplos de antioxidantes adecuados útiles en los métodos de la divulgación incluyen, pero no se limitan a, ácido ascórbico, tocoferoles, tocotrienoles, carotinoides, glutatión, ácido alfa-lipoico, ubiquinoles, bioflavonoides, carnitina y miméticos de dismutasa de superóxido, tales como, por ejemplo, compuestos de nitróxido de 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinilo (TEMPO), DOXILO, PROXILO; 4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinilo (Tempol), M-40401, M-40403, M-40407, M-40419, M-40484, M-40587 y M-40588.

[0190] En algunas realizaciones de la divulgación, se proporcionan métodos en los que los agentes terapéuticos antiapoptóticos se pueden administrar en combinación, antes, después o concomitantemente con los antagonistas de LFA-1 de la divulgación. Ejemplos de agentes antiapoptóticos adecuados son, por ejemplo, inhibidores de caspasas, cathepsinas y TNF- α .

[0191] Otra clase de agentes terapéuticos que pueden ser útiles para administración en combinación, antes, después o concomitantemente con los antagonistas de LFA-1 de la divulgación son los agentes antimicrobianos. Los compuestos antimicrobianos adecuados incluyen, entre otros, penicilinas, tales como, por ejemplo, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, nafcilina, penicilina, piperacilina y ticarcilina; inhibidores de la beta-lactamasa; carbapenems, tales como, por ejemplo, ertapenem, imipenem y meropenem; cefalosporinas, tales como, por ejemplo, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, cefadroxil, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftiraxona, cefazolina, cefixima, cefalexina, y cefepima; quinolonas, tales como, por ejemplo, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, morifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y trovafloxacina; macrólidos, tales como, por ejemplo, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, milbemicina y troleandomicina; monobactams, tales como, por ejemplo, antagonista de LFA-1; tetraciclinas, tales como, por ejemplo, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina y tetraciclina; aminoglucósidos, tales como, por ejemplo, amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, paromomicina, estreptomycin y tobramicina; carbacephem, tal como, por ejemplo, loracarbef; estreptograminas; sulfonamidas, tales como, por ejemplo, mefanida, prontosil, sulfacetamida, sulfametizol, sulfanilamida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprima y trimetoprima-sulfametoxazol; otros antimicrobianos como el metronidazol; y las drogas combinadas como, por ejemplo, sulfametoxazol y trimetoprima.

[0192] Otros agentes antimicrobianos incluyen la clase de agentes antivirales. Los agentes antivirales incluyen, entre otros, agentes terapéuticos tales como inhibidores de entrada, inhibidores de la transcriptasa inversa, análogos de nucleósidos o nucleótidos, inhibidores de proteasas e inhibidores de la liberación viral de las células huésped. Algunos agentes terapéuticos ilustrativos de este grupo incluyen, entre otros, abacavir, aciclovir, adefovir, amantadina, amprenavir, arbidol, atazanavir, atipla, brivudina, cidofovir, combivir, darunavir, delavirdina, didanosina, docosanol, edoxudina, efavirenz, emitabirenz, enfuvirtida, entecavir, famciclovir, fomivirsen, foscarnet, fosfonet, ganciclovir, gardasil, ibacitabina, imunovir, idoxuridina, imiquimod, indinavir, inosina, interferón tipo III, interferón tipo II, interferón tipo I, interferón, lamivudina, lopinavir, lovirida, maraviroc, moroxidina, nelfinavir, neviapina, nexavir, oseltamivir, penciclovir, peramivir, pleconaril, podofilotoxina, raltegravir, ribavirina, rimantadina, ritonavir, saquinavir, estavudina, tenofovir, tenofovir disoproxil, tipranavir, trifluridina, trizivir, tromantadina, truvada, valaciclovir, valganciclovir, vicriviroc, vidarabina, viramidina, zalcitabina, zanamivir y zidovudina.

[0193] En algunas de las realizaciones de la invención, las formulaciones administradas a la piel comprenden uno o más agentes antimicrobianos o antibióticos.

[0194] Los secretagogos también se pueden administrar en combinación, antes, concomitantemente o después de la administración del antagonista de LFA-1. El aumento de la producción de mucina u otro líquido en el ojo puede ser beneficioso. Los ejemplos incluyen, entre otros, Diquafasol, Rebamipida y Eicosanoid 15-(S)-HETE.

[0195] Además, los lubricantes se pueden administrar en combinación, antes, concomitantemente o después de la administración ocular del antagonista de LFA-1. Los ejemplos incluyen, entre otros, Refresh Dry Eye Therapy® y otras gotas lubricantes para los ojos.

Formas de composición

[0196] La formulación puede estar en cualquier forma adecuada para su aplicación en la superficie del cuerpo, tal como una crema, loción, solución, gel, pomada, pasta, yeso, pintura o bioadhesivo, y/o puede prepararse para contener liposomas, micelas y/o microesferas. Las formulaciones para uso tópico de las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden proporcionar como una composición tópica en donde los ingredientes farmacológicamente activos se mezclan con excipientes para formar una consistencia semisólida. Los ejemplos de tales composiciones farmacéuticas tópicas incluyen, pero no se limitan a, un gel, crema, loción, suspensión, emulsión, pomada, espuma y pasta. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas tópicas de la presente invención pueden formularse en una formulación semi-líquida. Los ejemplos de tales composiciones farmacéuticas tópicas incluyen, pero no se limitan a, una solución tópica, pulverización, neblina y gotas. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas tópicas de la presente descripción se pueden formular en forma de polvo seco. Las composiciones farmacéuticas también pueden administrarse mediante un parche transdérmico.

[0197] Las pomadas, como es bien conocido en la técnica de la formulación farmacéutica, son preparaciones semisólidas que se basan típicamente en petrolato u otros derivados del petróleo. Como ungüento, la composición tiene una consistencia adecuada para una aplicación dérmica uniforme. Además, la pomada puede ser sustancialmente viscosa para permanecer en contacto con la piel, independientemente de la transpiración, el exceso de humedad o las condiciones ambientales. La base de pomada específica que se utilizará, como apreciarán los expertos en la materia, es una que proporcionará una administración óptima del fármaco y también proporcionará otras características deseadas, por ejemplo, emoliencia. Al igual que con otros vehículos o portadores, una base de pomada debe ser inerte, estable, no irritante y no sensibilizante. Como se explica en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª Ed. (Easton, Pa.: Mack Publishing Co., 1995), en las páginas 1399-1404, las bases de ungüento pueden agruparse en cuatro clases: bases oleaginosas; bases emulsionables; bases de emulsión; y bases solubles en agua. Las bases de pomadas oleaginosas incluyen, por ejemplo, aceites vegetales, grasas obtenidas de animales e hidrocarburos semisólidos obtenidos del petróleo. Las bases de ungüento emulsionables, también conocidas como bases de ungüento absorbente, contienen poca o nada de agua e incluyen, por ejemplo, sulfato de hidroxistearina, lanolina anhidra y vaselina hidrofílica. Las bases de ungüento de emulsión son emulsiones de agua en aceite (O/W) o emulsiones de aceite en agua (O/W), e incluyen, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerilo, lanolina y ácido esteárico. Algunas bases de pomadas solubles en agua se preparan a partir de polietilenglicoles de peso molecular variable; nuevamente, vea Remington: The Science and Practice of Pharmacy para más información.

[0198] Las cremas, como también es bien conocido en la técnica, son líquidos viscosos o emulsiones semisólidas, bien de aceite en agua o de agua en aceite. Las bases de crema son lavables con agua y contienen una fase oleosa, un emulsionante y una fase acuosa. La fase oleosa, también llamada fase "interna", generalmente está compuesta de vaselina y un alcohol graso como el alcohol cetílico o estearílico. La fase acuosa generalmente, aunque no necesariamente, excede la fase de aceite en volumen, y generalmente contiene un humectante. El emulsionante en una formulación de crema es generalmente un tensioactivo no iónico, aniónico, catiónico o anfótero.

[0199] Los geles son sistemas de tipo suspensión semi-sólido y son bien conocidos en la técnica. El agente formador de gel para su uso en la presente invención puede ser cualquier agente gelificante utilizado típicamente en la técnica farmacéutica para formas de dosificación semisólidas tópicas. Los geles monofásicos contienen macromoléculas orgánicas distribuidas de manera sustancialmente uniforme en todo el líquido portador, que es típicamente acuoso, pero también puede contener un alcohol y opcionalmente un aceite. Para preparar un gel uniforme, se pueden agregar agentes dispersantes tales como alcohol o glicerina, o el agente gelificante se puede dispersar por tritración, mezcla mecánica o agitación, o combinaciones de los mismos. La cantidad de agentes gelificantes varía ampliamente y normalmente oscilará entre aproximadamente el 0,1% y aproximadamente el 2,0% en peso, en función del peso total de la composición. El agente formador de gel también funciona según el principio de copolimerización. Bajo pH alcalino, el carbómero en presencia de agua sufre reticulación y forma una estructura similar a un gel. El grado de polimerización depende del pH. A un pH umbral, las viscosidades alcanzadas por el grado de polímero son las máximas.

[0200] Las lociones son preparaciones para aplicarse a la superficie de la piel sin fricción, y son típicamente preparaciones semilíquidas en las que las partículas sólidas, incluido el agente activo, están presentes en una base de agua o alcohol. Las lociones son usualmente suspensiones de sólidos, y para el presente propósito, comprenden una emulsión oleosa líquida del tipo aceite en agua. Las lociones pueden ser formulaciones deseables en el presente documento para tratar áreas corporales grandes, debido a la facilidad de aplicar una composición más fluida. Generalmente es necesario que la materia insoluble en una loción se divida finamente. Las lociones típicamente contendrán agentes de suspensión para producir mejores dispersiones, así como compuestos útiles para localizar y mantener el agente activo en contacto con la piel, por ejemplo, metilcelulosa, o carboximetilcelulosa de sodio.

[0201] Las pastas son formas de dosificación semi-sólidas en las que el agente activo se suspende en una base adecuada. Dependiendo de la naturaleza de la base, las pastas se dividen entre pastas grasas o aquellas hechas de geles acuosos monofásicos. La base en una pasta grasa es generalmente vaselina o vaselina hidrofílica. Las pastas hechas de geles acuosos monofásicos generalmente incorporan carboximetilcelulosa como base.

[0202] Los yesos se componen de una mezcla pastosa que se propaga en el cuerpo, ya sea directamente o después de haber sido saturado en un material de base tal como tela. Los medicamentos, incluidas las bases farmacológicamente activas de la divulgación, pueden disolverse o dispersarse dentro del yeso para hacer un yeso medicado.

[0203] Los bioadhesivos son preparaciones que se adhieren a las superficies de los tejidos del cuerpo. Las formulaciones bioadhesivas poliméricas son bien conocidas en la técnica; véase, por ejemplo, Heller et al., "Biodegradable polymers as drug delivery systems", en Chasin, M. y Langer, R., eds.: Dekker, NY, págs. 121-161 (1990); y la patente de EE.UU. No. 6,201,065. También se conocen en la técnica bioadhesivos no poliméricos adecuados, que incluyen ciertos ésteres de ácidos grasos (patente de los Estados Unidos N° 6,228,383).

Métodos de tratamiento que utilizan tópicamente antagonistas LFA-1 formulados

[0204] Los compuestos de la invención son terapéuticamente y/o profilácticamente útiles para tratar enfermedades o condiciones mediadas por la actividad de LFA-1. Por consiguiente, en un aspecto, se proporciona un método para el tratamiento de un trastorno inflamatorio o relacionado con el sistema inmune en un sujeto que comprende administrar tópicamente a dicho sujeto que lo necesita una formulación que comprende un antagonista de LFA-1 o una sal o éster farmacéuticamente aceptable de la misma, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde el antagonista de LFA-1 tiene una velocidad de depuración sistémica mayor de aproximadamente 2 ml/min/kg cuando se administra a un sujeto.

[0205] Las ventajas de la administración tópica incluyen el suministro del agente terapéutico y efectos secundarios sistémicos mínimos localizados debido a la baja biodisponibilidad sistémica. Por ejemplo, las formulaciones tópicas de la invención pueden administrarse directamente a la piel, ojos, boca, nariz, mucosa vaginal o mucosa anal. Los métodos de administración tópica de las formulaciones de la presente invención son particularmente adecuados para la administración localizada de la formulación. Las formulaciones adecuadas y los vehículos adicionales se discuten en el presente documento y, adicionalmente, se describen en Remington "The Science and Practice of Pharmacy" (20ª Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore MD).

[0206] Una ventaja de la composición terapéutica de acuerdo con la invención es que la aplicación tópica es particularmente conveniente para el tratamiento y la prevención de una variedad de condiciones dérmicas. Las composiciones terapéuticas pueden aplicarse de forma no invasiva directamente al sitio de interés. Otros trastornos convenientemente abordados por administración tópica incluyen afecciones alérgicas del conducto nasal, ojo y cavidad oral. El suministro localizado de antagonista de LFA-1 al ojo se puede lograr mediante una gota o un aerosol en el ojo o las lágrimas. Luego, el medicamento se distribuye a través del tejido blando periocular o mediante la distribución a través de la esclerótica o a través del epitelio corneal, los trastornos gastrointestinales como la EII y la enfermedad de Crohn también pueden tratarse de manera útil mediante un tratamiento localizado de acuerdo con los métodos de la divulgación. En el tratamiento de dicha enfermedad, el antagonista de LFA-1 se administra por vía oral, pero se administra solo en el tracto gastrointestinal donde la formulación permite que el fármaco se disuelva en el fluido gastrointestinal. El antagonista de LFA-1 se distribuye luego a la superficie de la mucosa GI, con lo cual el antagonista de LFA-1 penetra a través del epitelio intestinal hasta el tejido adyacente local. Los fluidos en el tracto gastrointestinal que tienen altos niveles de fármaco viajarán por el tracto gastrointestinal con motilidad gastrointestinal normal y flujo gástrico y cubrirán la superficie afectada del tubo digestivo a lo largo del camino. Además, el antagonista de LFA-1 que se distribuye fuera del tejido intestinal local y dentro de la vasculatura es barrido al hígado y transportado por vía biliar al tracto gastrointestinal inferior.

[0207] En algunas realizaciones, los agentes terapéuticos de la divulgación tienen un aclaramiento sistémico rápido tal que cualquier fármaco que se absorbe sistémicamente se elimina rápidamente. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 puede tener una velocidad de depuración sistémica de más de aproximadamente 1 ml/min/kg, aproximadamente 2 ml/min/kg, aproximadamente 3 ml/min/kg, aproximadamente 4 ml/min/kg, aproximadamente 5 ml/min/kg, aproximadamente 6 ml/min/kg, aproximadamente 7 ml/min/kg, aproximadamente 8 ml/min/kg, aproximadamente 9 ml/min/kg, aproximadamente 10 ml/min/kg, aproximadamente 11 ml/min/kg, aproximadamente 12 ml/min/kg, aproximadamente 13 ml/min/kg, aproximadamente 14 ml/min/kg, aproximadamente 15 ml/min/kg, aproximadamente 16 ml/min/kg, aproximadamente 17 ml/min/kg, aproximadamente 18 ml/min/kg, aproximadamente 19 ml/min/kg, aproximadamente 20 ml/min/kg, aproximadamente 25 ml/min/kg, aproximadamente 30 ml/min/kg, aproximadamente 35 ml/min/kg, aproximadamente 40 ml/min/kg, aproximadamente 45 ml/min/kg, aproximadamente 50 ml/min/kg, aproximadamente 60 ml/min/kg, aproximadamente 65 ml/min/kg, aproximadamente 70 ml/min/kg, aproximadamente 75 ml/min/kg, aproximadamente 80 ml/min/kg, aproximadamente 85 ml/min/kg, aproximadamente 90 ml/min/kg, aproximadamente 95 ml/min/kg o aproximadamente 100 ml/min/kg.

[0208] Se sabe que LFA-1 interactúa con varios ligandos que podrían provocar varios efectos secundarios no deseados. Así, en algunas realizaciones, la concentración local del agente terapéutico es aproximadamente 2X, 3X, 4X, 5X, 10X, 25X, 50X o 100X mayor que la concentración sistémica. En otra realización de la descripción actual, la concentración local del antagonista de LFA-1 es 1000 veces mayor que la concentración sistémica. En una realización, la concentración local es aproximadamente 10,000x o más mayor que la concentración sistémica en el mismo punto

de tiempo. La concentración de agente terapéutico se puede medir usando cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, se puede usar un fármaco terapéutico radiomarcado y se pueden tomar medidas desde el sitio local de administración en comparación con los niveles sistémicos (por ejemplo, concentraciones en el nivel plasmático).

[0209] Las composiciones pueden ser entregadas con un perfil farmacocinético que resulta en la entrega de una eficaz dosis del antagonista de LFA-1. Las cantidades efectivas reales de fármaco pueden variar de acuerdo con el fármaco específico o combinación del mismo que se utiliza, la composición particular formulada, el modo de administración y la edad, peso, afección del paciente y gravedad de los síntomas o afección a tratar. Un experto en la materia puede determinar las dosis para un paciente particular utilizando consideraciones convencionales (por ejemplo, mediante un protocolo farmacológico convencional apropiado).

[0210] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración a un sujeto. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M dentro de aproximadamente 3 horas después de la administración a un sujeto. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M dentro de aproximadamente 2 horas después de la administración a un sujeto. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M dentro de aproximadamente 1 hora después de la administración a un sujeto. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M en aproximadamente 50 minutos, aproximadamente 40 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 20 minutos, aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 5 minutos o aproximadamente 3 minutos siguiente administración a un sujeto. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración de tejido local en la piel de más de aproximadamente 1 μ M dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración a un sujeto. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración de tejido local en la piel de más de aproximadamente 1 μ M en aproximadamente 6 horas, aproximadamente 5,5 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 4,5 horas, aproximadamente 3,5 horas, aproximadamente 3,0 horas o aproximadamente 2,5 horas después de la administración a un sujeto, en algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración local de retina y/o tejido intraocular mayor de aproximadamente 1 μ M en aproximadamente 180 min, aproximadamente 170 min, aproximadamente 160 min, aproximadamente 150 min, aproximadamente 140 min, aproximadamente 130 min, aproximadamente 120 min, aproximadamente 110 min, aproximadamente 100 min, aproximadamente 90 min, aproximadamente 80 min, aproximadamente 70 min, aproximadamente 60 min, aproximadamente 50 min, aproximadamente 40 min, aproximadamente 30 min o aproximadamente 20 minutos después de la administración a un sujeto. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 se administra al ojo como un colirio para administrar el antagonista de LFA-1 a la retina y/o al tejido intraocular. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 logra una concentración local de desgarro y/o superficie corneal mayor de aproximadamente 1 μ M en aproximadamente 60 min, aproximadamente 50 min, aproximadamente 40 min, aproximadamente 30 min, aproximadamente 20 min, aproximadamente 19 min, aproximadamente 18 min, aproximadamente 17 min, aproximadamente 16 min, aproximadamente 15 min, aproximadamente 14 min, aproximadamente 13 min, aproximadamente 12 min, aproximadamente 11 min, aproximadamente 10 min, aproximadamente 9 min, aproximadamente 8 min, aproximadamente 7 min, aproximadamente 6 min, aproximadamente 5 min, aproximadamente 4 min, aproximadamente 3 min, aproximadamente 2 min o aproximadamente 1 min después de la administración a un sujeto. En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 se administra al ojo en forma de gotas para administrar el antagonista de LFA-1 a los desgarros y/o la superficie corneal.

[0211] Después de que la formulación de la invención se administra tópicamente como se describió anteriormente, el antagonista de LFA-1 se distribuye al tejido local y está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 1 mm de una superficie epitelial a la que se aplica la formulación. En algunas realizaciones en las que la formulación se administra por vía tópica, el antagonista de LFA-1 está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 2 mm, aproximadamente 3 mm, aproximadamente 4 mm, aproximadamente 5 mm, aproximadamente 6 mm, aproximadamente 7 mm, aproximadamente 8 mm, aproximadamente 9 mm, aproximadamente 10 mm, aproximadamente 12 mm, aproximadamente 14 mm, aproximadamente 16 mm, aproximadamente 18 mm, aproximadamente 20 mm, aproximadamente 30 mm, aproximadamente 40 mm, o aproximadamente 50 mm de una superficie epitelial a la cual la formulación es aplicada. En realizaciones, en las que las formulaciones de la invención se administran por vía oral, el antagonista de LFA-1 se libera en el tracto GI y está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 1 mm de una superficie epitelial a la que se distribuye el antagonista de LFA-1 desde el tracto gastrointestinal. En algunas otras realizaciones, en las que las formulaciones de la invención se administran por vía oral, el antagonista de LFA-1 se libera en el tracto GI y está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 2 mm, aproximadamente 3 mm, aproximadamente 4 mm, aproximadamente 5 mm, aproximadamente 6 mm, aproximadamente 7 mm, aproximadamente 8 mm, aproximadamente 9 mm, aproximadamente 10 mm, aproximadamente 12 mm, aproximadamente 14 mm, aproximadamente 16 mm, aproximadamente 18 mm, aproximadamente 20 mm, aproximadamente 30 mm, aproximadamente 40 mm, o aproximadamente 50 mm de una superficie epitelial a la que se distribuye el antagonista de LFA-1 desde el tracto GI.

[0212] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de

[illegible]

[0213] En algunos de los métodos de la divulgación, el antagonista de LFA-1 mantiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 10 nM durante al menos aproximadamente 8 horas después de la administración. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 mantiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 10 nM, aproximadamente 20 nM, aproximadamente 30 nM, aproximadamente 40 nM, aproximadamente 50 nM, aproximadamente 75 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 150 nM, aproximadamente 200 nM, aproximadamente 150 nM, aproximadamente 300 nM, aproximadamente 400 nM, aproximadamente 500 nM, aproximadamente 600 nM, aproximadamente 700 nM, aproximadamente 800 nM, aproximadamente 900 nM o aproximadamente 1 μ M, durante al menos aproximadamente 8 horas después de la administración. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 mantiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 10 nM, aproximadamente 20 nM, aproximadamente 30 nM, aproximadamente 40 nM, aproximadamente 50 nM, aproximadamente 75 nM, aproximadamente 100 nM, aproximadamente 150 nM, aproximadamente 200 nM, aproximadamente 150 nM, aproximadamente 300 nM, aproximadamente 400 nM, aproximadamente 500 nM, aproximadamente 600 nM, aproximadamente 700 nM, aproximadamente 800 nM.

aproximadamente 900 nM o aproximadamente 1 μ M, durante al menos aproximadamente 10 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 2 horas o aproximadamente 1 hora después de la administración.

[0214] En algunos de los métodos de la divulgación, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M y una concentración sistémica medida en plasma de menos de aproximadamente 100 nM, dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 tiene una concentración de tejido local de más de aproximadamente 1 μ M y una concentración sistémica medida en plasma de menos de aproximadamente 80 nM, aproximadamente 70 nM, aproximadamente 60 nM o aproximadamente 50 nM, dentro de aproximadamente 4 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 50 minutos, aproximadamente 40 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 20 minutos, aproximadamente 10 minutos o aproximadamente 5 minutos después de la administración.

[0215] Además, en algunos de los métodos de la divulgación, el antagonista de LFA-1 está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 1 mm de una superficie epitelial a la que se aplica la formulación y está presente en el plasma sanguíneo por debajo de un nivel terapéuticamente efectivo, dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración. En otras realizaciones, el antagonista de LFA-1 está presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 2 mm, aproximadamente 3 mm, aproximadamente 4 mm, aproximadamente 5 mm, aproximadamente 6 mm, aproximadamente 7 mm, aproximadamente 8 mm, aproximadamente 9 mm, aproximadamente 10 mm, aproximadamente 12 mm, aproximadamente 14 mm, aproximadamente 16 mm, aproximadamente 18 mm, aproximadamente 20 mm, aproximadamente 30 mm, aproximadamente 40 mm o aproximadamente 50 mm de una superficie epitelial a la que se aplica la formulación y está presente en la sangre plasma por debajo de un nivel terapéuticamente efectivo, dentro de aproximadamente 4 horas después de la administración. Alternativamente, el antagonista de LFA-1 puede estar presente en una concentración terapéuticamente efectiva dentro de aproximadamente 1 mm de una superficie epitelial a la que se aplica la formulación y está presente en el plasma sanguíneo por debajo de un nivel terapéuticamente efectivo, dentro de aproximadamente 6 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 50 minutos, aproximadamente 40 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 20 minutos, aproximadamente 10 minutos o aproximadamente 5 minutos después de la administración.

[0216] La divulgación proporciona métodos para el tratamiento del componente inflamatorio de trastornos inmunes y de otro tipo en un sujeto. En particular, los métodos descritos en el presente documento son útiles para el tratamiento de la inflamación mediada por leucocitos. Las formulaciones de la invención son inhibidores potentes de LFA-1 e inhiben las citocinas liberadas por las células T Th1 y las células T Th2. La inflamación mediada por leucocitos juega un papel en iniciar y avanzar la inflamación en enfermedades seleccionadas, como las respuestas inflamatorias de células T. Los métodos generalmente implican la administración de uno o más fármacos para el tratamiento de una o más enfermedades. Se pueden usar combinaciones de agentes para tratar una enfermedad o múltiples enfermedades o para modular los efectos secundarios de uno o más agentes en la combinación.

[0217] Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en combinación con otros agentes tales como agentes para tratar trastornos inmunes relacionados. Además, los compuestos de la divulgación pueden usarse junto con otros fármacos para contrarrestar ciertos efectos, por ejemplo, los antagonistas de LFA-1 pueden administrarse con fármacos que causan ojo seco como un efecto secundario.

Usos de la invención

[0218] Los antagonistas de LFA-1 de la presente descripción se pueden usar para tratar una variedad de trastornos relacionados con el sistema inmune. LFA-1 se ha implicado en una serie de trastornos inmunes relacionados. En particular, los métodos descritos en el presente documento son útiles para el tratamiento de la inflamación mediada por leucocitos. La inflamación mediada por leucocitos juega un papel en el inicio y en el avance de la inflamación en enfermedades seleccionadas, como las respuestas inflamatorias de células T. La administración local de antagonistas de LFA-1 puede ser particularmente efectiva en estados de enfermedad donde la administración sistémica de anticuerpos monoclonales anti-LFA-1 ha demostrado ser efectiva (ver ensayos clínicos de Raptiva en www.clinicaltrials.gov. Raptiva ha demostrado efecto en psoriasis, eccema, riñón y trasplante de células de islotes).

[0219] Trastornos inmunes que implican LFA-1 incluyen trastornos oculares, tales como inflamación de la superficie intraocular, periocular y ocular: queratoconjuntivitis sicca, queratoconjuntivitis sicca (KCS, también conocido como ojo seco), KCS en pacientes con síndrome de Sjogren, conjuntivitis alérgica, uveítis; inflamación del ojo, la córnea y el tejido periocular por el uso de lentes de contacto; inflamación del ojo después de una cirugía que incluye lasik; inflamación intraocular que incluye inflamación de la retina y los segmentos anterior y posterior del ojo, inflamación de la glándula meibomiana, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), uveítis, edema y retinopatías que incluyen edema macular diabético y retinopatía diabética; inflamación corneal, incluido el rechazo de trasplantes corneales, oftalmopatía de Graves, ojo seco relacionado con la edad, síndrome de Stevens-Johnson, alachrima

congénita, efectos secundarios farmacológicos, infección, síndrome de Riley-Day, fibrosis conjuntival, estrés ocular, destrucción glandular y tisular, penfigoide cicatricial ocular, blefaritis, trastornos autoinmunes y otros inmunodeficientes, alergias, deficiencia de la glándula lagrimal, lupus, artritis reumatoide, rosácea, exposición ambiental al aire excesivamente seco, partículas en el aire, humo y smog e incapacidad para parpadear, entre otros.

Otros trastornos relacionados con el sistema inmune incluyen enfermedades alérgicas como conjuntivitis alérgica, asma alérgica, dermatitis como dermatitis atópica, eccema, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica, hipersensibilidad alimentaria y dermatitis alérgica de contacto. Otros trastornos relacionados con el sistema inmunitario incluyen enfermedades inflamatorias, como reacciones de hipersensibilidad de la piel (como hiedra venenosa y roble venenoso). Otros trastornos inmunes relacionados incluyen enfermedades inflamatorias dermatológicas como eccema, dermatitis atópica, psoriasis, enfermedades cutáneas ampollosas, dermatitis de contacto irritante y otras dermatitis eccematosas, dermatitis seborreica y manifestaciones cutáneas de trastornos mediados inmunológicamente. Otros trastornos relacionados con el sistema inmunitario incluyen enfermedades autoinmunes como el síndrome de Sjogren, que incluye ojo seco, boca seca y otras inflamaciones locales asociadas con el síndrome de Sjogren y la artritis reumatoide. Otros trastornos relacionados con el sistema inmune incluyen trastornos relacionados con el trasplante, como el rechazo agudo o crónico de aloinjertos o aloinjertos de células, tejidos u órganos o la función retardada del injerto, enfermedad de injerto contra huésped. Los ejemplos de trasplantes de células, tejidos u órganos sólidos incluyen, por ejemplo, tejido corneal. Otros trastornos relacionados con el sistema inmunitario incluyen, entre otros, alopecia areata, retinopatía diabética, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), dermatitis atópica, inflamación del trasplante renal, asma, hidradentis suppurativa, artritis reumatoide, artritis psoriásica, síndrome de Sjogren, uveítis, injerto vs enfermedad del huésped (EICH), liquen plano oral, artralgia o inflamación del trasplante de células de los islotes, e inflamación posoperatoria del ojo.

[0220] La presente descripción también es útil en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, o EII. La EII se refiere a cualquiera de una variedad de enfermedades caracterizadas típicamente por la inflamación de todo o parte de los intestinos. Los ejemplos de enfermedad inflamatoria intestinal incluyen, entre otros, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable, mucositis, enteritis inducida por radiación, síndrome del intestino corto, enfermedad celíaca, colitis, úlceras estomacales, diverticulitis, pouchitis, proctitis y diarrea crónica. La referencia a la EII es un ejemplo de afecciones inflamatorias gastrointestinales, y no pretende ser limitante.

[0221] Otra realización de esta descripción es para el tratamiento de trastornos oculares. Las formulaciones tópicas de la presente divulgación pueden aplicarse directamente al ojo. Por ejemplo, los métodos de la presente divulgación son útiles para el tratamiento de la inflamación de la superficie intraocular, periocular y ocular: queratoconjuntivitis, queratoconjuntivitis seca (KCS, también conocido como ojo seco), KCS en pacientes con síndrome de Sjogren, conjuntivitis alérgica, uveítis; inflamación del ojo, la córnea y el tejido periocular por el uso de lentes de contacto; inflamación del ojo después de una cirugía que incluye lasik; inflamación intraocular que incluye inflamación de la retina y los segmentos anterior y posterior del ojo, inflamación de la glándula meibomiana, disfunción de la glándula meibomiana, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), uveítis, edema y retinopatías que incluyen edema macular diabético y retinopatía diabética; inflamación corneal, incluido el rechazo de trasplantes corneales, oftalmopatía de Graves, ojo seco relacionado con la edad, síndrome de Stevens-Johnson, alachrima congénita, efectos secundarios farmacológicos, infección, síndrome de Riley-Day, fibrosis conjuntival, estrés ocular, destrucción glandular y tisular, penfigoide cicatricial ocular, blefaritis, trastornos autoinmunes y otros inmunodeficientes, alergias, diabetes, deficiencia de la glándula lagrimal, lupus, enfermedad de Parkinson, artritis reumatoide, rosácea, exposición ambiental al aire excesivamente seco, partículas en el aire, humo y smog e incapacidad para parpadear, entre otros.

[0222] La diabetes afecta a casi 200 millones de personas en todo el mundo y 20 millones en los Estados Unidos. La retinopatía diabética, las complicaciones microvasculares de la diabetes, es la principal causa de ceguera en personas en edad laboral en los EE.UU. La prevalencia de DR aumenta con la duración de la enfermedad. Después de 20 años, aproximadamente el 100% de los pacientes con Tipo I desarrollan DR y aproximadamente el 60% de los pacientes con Tipo II desarrollan DR. DR se puede clasificar en 2 etapas: *no proliferativa* y *proliferativa*. El edema macular diabético (EMD), una manifestación de DR, puede ocurrir en cualquier etapa y es la principal causa de pérdida de visión. DME se caracteriza por una mayor permeabilidad vascular y exudados duros.

[0223] Para la administración tópica, todas las formulaciones para la administración ocular tópica utilizadas en el campo de la oftalmología (p. ej., colirios, insertos, paquetes oculares, lentes de contacto impregnados, sistemas de administración de bombas, suspensiones de soluciones a base de dimetilsulfóxido (DMSO), liposomas, y pomada para ojos) y todas las formulaciones para uso externo en los campos de dermatología y otorrinolaringología (p. ej., pomada, crema, gel, polvo, ungüento, loción, formas cristalinas, espuma y aerosol) pueden utilizarse como se conoce en la técnica. Además, todas las formulaciones adecuadas para la administración tópica a la piel y las membranas mucosas de los conductos nasales se pueden utilizar para administrar los compuestos de la divulgación. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser una formulación liposomal para administración tópica u oral, cualquiera de las cuales se sabe en la técnica que es adecuada para el propósito de esta invención.

[0224] Otra realización es el tratamiento de enfermedades alérgicas. Las formulaciones de la presente invención pueden aplicarse tópicamente directamente, por ejemplo, a los ojos, nariz, boca, piel, mucosa vaginal o mucosa anal. Los métodos de la presente divulgación son útiles para el tratamiento de conjuntivitis alérgica, conjuntivitis vernal, asma alérgica, dermatitis atópica, eccema, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica y dermatitis alérgica de contacto.

[0225] La conjuntivitis alérgica es predominantemente una enfermedad de adultos jóvenes que se caracteriza por picazón ocular, enrojecimiento, edema conjuntival, hinchazón de los párpados y secreción acuosa de los ojos y las fosas nasales. Aunque no amenazan la visión, los pacientes que padecen conjuntivitis alérgica tienden a tener un funcionamiento social y bienestar emocional deteriorados y una mayor utilización de los recursos de atención médica (Blais, 2006, Allergy Asthma Proc.). Se estima que la alergia ocular afecta aproximadamente al 20% de la población de EE.UU. y la incidencia está aumentando (Abelson, 2003, Ocul Surf).

[0226] La conjuntiva es una superficie de la mucosa que está altamente expuesta a los alérgenos ambientales y a menudo es el primer sitio de contacto con los alérgenos transportados por el aire en individuos atópicos. Después de la exposición al antígeno, los mastocitos conjuntivales se degranulan, desencadenados por la reticulación del antígeno de los anticuerpos IgE en la superficie celular (Bielory, 2005, Drogas). Los mastocitos liberan mediadores inflamatorios recién formados y preexistentes. La histamina es un mediador preformado primario responsable de la típica reacción de fase temprana (EPR) que desencadena picazón (prurito ocular), vasodilatación y fuga vascular que conduce a hiperemia ocular, quemosis y blefaritis. El EPR ocurre dentro de minutos a horas después de la exposición al alérgeno. Los mastocitos también sintetizan y liberan citocinas IL-4, IL-5, PAF y TNF α . La liberación de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento inicia una cascada de eventos inflamatorios que incluyen una mayor expresión de ICAM-1 en la superficie de las células epiteliales, lo que conduce a una reacción de fase tardía (LPR) con LFA-1/ICAM-1-macrófagos en los tejidos conjuntivales (Ciprandi, 1993, J Allergy Clin Immunol), (Bacon, 2000, J Allergy Clin Immunol). Los sujetos alérgicos (pero no los sujetos normales) expresan ICAM-1 en el epitelio conjuntival dentro de los 30 minutos posteriores a la exposición al alérgeno, que aumenta 3 veces en las primeras 24 horas.

[0227] Si bien los tratamientos actualmente aprobados (p. ej., antihistamínicos, MCS) para la alergia ocular se centran principalmente en la reducción de los signos o síntomas del EPR, hay evidencia emergente que sugiere que muchos pacientes exhiben evidencia clínica de LPR persistente (Choi, 2008, Curr Opin Allergy Clin Immunol). Las manifestaciones de la LPR ocurren aproximadamente 6-24 horas después de la exposición al alérgeno y se caracterizan por la prolongación de los signos y síntomas oculares, así como por la afluencia histológica de células inflamatorias agudas, particularmente eosinófilos, hacia la conjuntiva. Los esteroides tópicos se han utilizado para controlar la inflamación ocular crónica y la enfermedad refractaria que no se controla adecuadamente con antihistamínicos/MCS. Sin embargo, solo se pueden utilizar cursos cortos de terapia con esteroides debido al mayor riesgo de posibles efectos secundarios (por ejemplo, formación de cataratas, glaucoma).

[0228] El compuesto 12 puede ser instrumental en el bloqueo de la interacción LFA-1/ICAM-1 y proporcionar una terapia alternativa para reducir la inflamación ocular, el tratamiento de LPR, y evitar los problemas de seguridad asociados con la administración de esteroides tópicos. En los modelos de desafío de alérgenos conjuntivales murinos, se han demostrado reducciones significativas tanto en los signos clínicos como en la infiltración de eosinófilos/neutrófilos en la conjuntiva cuando los animales recibieron tratamiento profiláctico con anticuerpos anti-ICAM-1 y/o anti-LFA-1 administrados por vía sistémica (Whitcup, 1999, Clin Immunol). Además, los mastocitos parecen requerir el contacto mediado por LFA-1/ICAM-1 con células T activadas para la desgranulación. Los estudios *in vitro* han demostrado que el grado de adhesión de células T activadas a los mastocitos disminuye cuando las células T se tratan previamente con anticuerpo antiLFA-1 (Mekori, 1999, J Allergy Clin Immunol), (Brill, 2004, Clin Exp Allergy).

[0229] Otra realización más es el tratamiento de enfermedades inflamatorias dermatológicas. Las formulaciones tópicas de la presente invención pueden aplicarse directamente, por ejemplo, a la piel, ojos, boca, nariz, mucosa vaginal o mucosa anal. Por ejemplo, los métodos de la presente descripción son útiles para el tratamiento de eccema, dermatitis atópica, psoriasis, dermatitis de contacto irritante y otras dermatitis eczematosas, dermatitis seborreica y manifestaciones cutáneas de trastornos inmunológicamente mediados.

[0230] Sin pretender limitar el mecanismo de acción, los métodos de la presente divulgación implican la inhibición del inicio y la progresión de la enfermedad relacionada con la inflamación al inhibir la interacción entre LFA-1 e ICAM-1. LFA-1 e ICAM-1 son moléculas con dominios de receptores extracelulares que participan en el proceso de migración y proliferación de linfocitos/leucocitos, lo que conduce a una cascada de respuestas inflamatorias. En algunas realizaciones, dichos métodos proporcionan efectos antiinflamatorios *in vitro* e *in vivo*, por ejemplo, como se describe con más detalle a continuación, y son útiles en el tratamiento de enfermedades mediadas por inflamación, por ejemplo, asma, eczema o enfermedad del ojo seco.

[0231] La sangre humana contiene glóbulos blancos (leucocitos) que se clasifican además como neutrófilos, linfocitos (con subtipos B y T), monocitos, eosinófilos y basófilos. Varias de estas clases de leucocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos y linfocitos están involucradas en trastornos inflamatorios. LFA-1 es uno de un grupo de leucointegrinas que se expresan en la mayoría de los leucocitos, y se considera que es la integrina linfoide que interactúa con una serie de ICAM como ligandos. Interrumpir estas interacciones y, por lo tanto, la respuesta inmune/inflamatoria reduce la inflamación, por ejemplo, asma, eccema o inflamación del ojo.

[0232] Por ejemplo, ICAM-1 (CD54) es un miembro de la familia de receptores de adhesión ICAM (ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, ICAM-4) en la superfamilia de proteínas de inmunoglobulina, y se expresa en leucocitos activados, fibroblastos dérmicos, y células endoteliales. Verkrensky, AM; Sánchez-Madrid, F.; Robbins, E.; Nagy, JA; Springer,

Ta Burakoff, SJ "The functional significance, distribution, and structure of LFA-1, LFA-2, and LFA-3: cell surface antigens associated with CTL-target interactions". 1983 J. Immunol. 131, 611-616. Normalmente se expresa en las células endoteliales que recubren la vasculatura, y se regula por aumento tras la exposición a citocinas o compuestos que inducen la liberación de citocinas, como IL-1, LPS, SEB y TNF durante el inicio inmunitario/inflamatorio.

[0233] La investigación realizada durante la última década ha ayudado a dilucidar los eventos moleculares involucrados en el movimiento y la activación de las células en el sistema inmune, centrándose en las interacciones de activación de célula a célula dentro de la cascada. Ver Springer, TA "Adhesion receptors of the immune system." Nature, 1990, 346, 425-434. La interacción de las moléculas de adhesión intercelular (ICAM) con las leucointegrinas desempeña un papel en el funcionamiento del sistema inmune. Se cree que los procesos inmunes como la presentación de antígenos, la citotoxicidad mediada por células T y la migración transendotelial de leucocitos (diapedesis) requieren adhesión celular mediada por ICAM que interactúan con leucointegrinas. Verkishimoto, TK; Rothlein; RR " Integrins, ICAMs, and selectins: role and regulation of adhesion molecules in neutrophil recruitment to inflammatory sites ". Adv. Pharmacol 1994, 25, 117-138 y Diamond, M.; Springer, Ta "The dynamic regulation of integrin adhesiveness." Current Biology, 1994, 4, 506-532.

[0234] Se ha demostrado que la interacción de ICAM-1 y LFA-1 (también conocida como $\alpha L\beta 2$ y CD11a/CD18) está implicada en los procesos de adhesión, migración transendotelial de leucocitos, migración a sitios de lesión y proliferación de linfocitos en el sitio diana activado. Por ejemplo, actualmente se cree que antes de la migración transendotelial de leucocitos, un componente de la respuesta inflamatoria, la presencia de citocinas/quimiocinas activa las integrinas expresadas constitutivamente en los leucocitos. Las células endoteliales de los vasos sanguíneos también regulan al alza ICAM-1 en respuesta a la presencia de las mismas citocinas/quimiocinas. A medida que los leucocitos rodantes se acercan a las células endoteliales activadas, su progreso se ralentiza primero por estos receptores ICAM-1 regulados al alza. Esto es seguido por una interacción ligando/receptor entre LFA-1 e ICAM-1, expresada en las superficies de las células endoteliales de los vasos sanguíneos, que impide que el linfocito siga rodando. El linfocito se aplana y se produce la transvasación. Este proceso es importante tanto en la transmigración de linfocitos a través del endotelio vascular como en el tráfico de linfocitos desde la sangre periférica a los ganglios linfáticos.

[0235] LFA-1 desempeña un papel en la creación y el mantenimiento de la sinapsis inmunológica, que puede definirse como la estructura física de las superficies de interacción de las células T y las células presentadoras de antígeno (APC). LFA-1 estabiliza el compromiso de las células T con el APC y, por lo tanto, conduce a la activación de las células T. La interacción de LFA-1 e ICAM-1 también parece proporcionar señales coestimuladoras a las células T en reposo. La proliferación de células T CD4+ y la síntesis de citocinas están mediadas por esta interacción como parte de la respuesta inflamatoria.

[0236] Dado el papel que juega la interacción de ICAM-1 y LFA-1 en la respuesta inmune/inflamatoria, es deseable modular estas interacciones para lograr un resultado terapéutico deseado (por ejemplo, inhibición de la interacción en el caso de una respuesta inflamatoria hiperactiva). Se ha demostrado que el antagonismo de la interacción entre ICAM y leucointegrinas puede realizarse mediante agentes dirigidos contra cualquiera de los componentes, particularmente con anticuerpos monoclonales.

[0237] Además, dado que LFA-1 tiene varios socios ligandos dentro de la familia ICAM (ICAM-1, ICAM-2 e ICAM-3), que implican varias rutas de señalización, en algunas realizaciones de la invención, es deseable modular estas interacciones de forma selectiva.

[0238] Los métodos y composiciones descritas en este documento pueden modular uno o más componentes de las vías descritas en este documento. Además de inhibir la interacción entre LFA-1 e ICAM-1, los métodos y composiciones de la presente divulgación también pueden intervenir en porciones anteriores o posteriores del proceso inflamatorio. Por ejemplo, la regulación al alza de ICAM-1 o LFA-1 (activación) en células endoteliales o leucocitos, antes del anclaje y la migración transendotelial puede ser modulada por los métodos y composiciones descritas en este documento. La presente descripción puede ser útil para modular la expresión de citocinas o quimiocinas que activan ICAM-1 y LFA-1 en el curso del tráfico de leucocitos, para modular el transporte de las citocinas o quimiocinas, para prevenir la transvasación de los leucocitos detenidos, para modular señalización a través de otros mecanismos que están involucrados en la proliferación de leucocitos en el sitio de la lesión o inflamación.

Administración

[0239] El método de administración de la composición farmacéuticamente activa puede variar, pero implica necesariamente la aplicación de una formulación de la invención en un área de la superficie corporal afectada por una dermatosis inflamatoria. En los métodos de la divulgación, la formulación se aplica tópicamente a la piel, ojos, boca, nariz, mucosa vaginal o mucosa anal. Una crema, pomada, pasta, yeso o loción puede extenderse sobre el área afectada de la piel y frotar suavemente. Del mismo modo, una formulación polimérica u otra bioadhesiva puede extenderse o aplicarse sobre el área afectada de la piel. Se puede aplicar una solución de la misma manera, pero más típicamente se aplicará con un gotero o hisopo, y se aplicará cuidadosamente al área afectada de la piel. La vaselina puede extenderse sobre la piel que rodea el área afectada de la piel para protegerla de posibles irritaciones durante

el tratamiento.

[0240] El régimen de dosificación dependerá de una serie de factores que pueden determinarse fácilmente, tales como el tamaño del área afectada, la gravedad de la dermatosis y la capacidad de respuesta de la dermatosis inflamatoria al tratamiento, pero normalmente será una o más dosis por día, con un curso de tratamiento que durará de varios días a varios meses, o hasta que se efectúe una cura o una disminución significativa en el tamaño y/o se logra la severidad de la dermatosis inflamatoria. La administración local de un antagonista de LFA-1 que se elimina rápidamente de la circulación sistémica puede tener un beneficio particular para los pacientes con enfermedades inflamatorias que afectan a grandes áreas. En este escenario, los pacientes pueden tratar grandes áreas sin inmunosupresión significativa y riesgo de efectos secundarios debido a la exposición sistémica al medicamento. Un experto en la materia puede determinar fácilmente las dosis óptimas, las metodologías de dosificación y las tasas de repetición. En general, se contempla que la formulación se aplique de una a cuatro veces al día. Con un parche para la piel, el dispositivo generalmente se mantiene en su lugar en la superficie del cuerpo durante un período de administración del medicamento, típicamente en el rango de 8 a 72 horas, y se reemplaza según sea necesario.

[0241] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 está presente en una cantidad suficiente para ejercer un efecto terapéutico para reducir los síntomas de un trastorno relacionado con el sistema inmune en un promedio de al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, más del 90%, o eliminan sustancialmente los síntomas del trastorno inmunitario. Para muchas enfermedades inflamatorias, hay evaluaciones clínicas bien reconocidas del efecto terapéutico (por ejemplo, puntuación PASI para psoriasis y puntuación EASI para eccema).

[0242] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 está presente en una cantidad suficiente para disminuir la neovascularización y el eritema en un individuo tratado en un promedio de al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, más del 90%, o elimina sustancialmente la neovascularización.

[0243] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 está presente en una cantidad suficiente para disminuir el crecimiento fibrovascular de un individuo en un promedio de al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, más del 90%, o eliminan sustancialmente el crecimiento fibrovascular.

[0244] En algunas realizaciones, una cantidad eficaz del antagonista de LFA-1 es una dosis de aproximadamente 1×10^{-11} , 1×10^{-10} , 1×10^{-9} , 1×10^{-8} , 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 1×10^{-2} , 1×10^{-1} , 1, 1×10^1 o 1×10^2 gramos.

[0245] Un método para el tratamiento de trastornos del sistema inmunitario comprende la administración de las formulaciones de la presente invención en forma tópica.

[0246] Las dosis diarias totales de los medicamentos contemplados para su uso con esta invención, y en consecuencia las concentraciones en peso de los medicamentos en las composiciones respectivas, pueden variar ampliamente, pero están dentro de la habilidad típica del profesional de rutina.

[0247] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 se administra en una dosis única. También se puede usar una dosis única de un antagonista de LFA-1 cuando se administra conjuntamente con otra sustancia (por ejemplo, un analgésico) para el tratamiento de una afección aguda.

[0248] En algunas realizaciones, el antagonista de LFA-1 (por sí mismo o en combinación con otros fármacos) se administra en múltiples dosis. La dosificación puede ser aproximadamente una, dos, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, siete veces, ocho veces, nueve veces, diez veces o más de diez veces por día. La dosificación puede ser aproximadamente una vez al año, dos veces al año, cada seis meses, cada 4 meses, cada 3 meses, cada 60 días, una vez al mes, una vez cada dos semanas, una vez a la semana o una vez cada dos días. En una realización, el fármaco es un analgésico. En otra realización, el antagonista de LFA-1 y otra sustancia terapéutica se administran juntos aproximadamente una vez al día hasta aproximadamente 10 veces al día. En otra realización, se administra una sustancia terapéutica adicional concurrente, antes o después de administrar el antagonista de LFA-1. En otra realización, la administración del antagonista de LFA-1 y otra sustancia terapéutica continúa durante menos de aproximadamente 7 días. En otra realización más, la administración conjunta continúa durante más de aproximadamente 6, 10, 14, 28 días, dos meses, seis meses o un año. En algunos casos, la dosificación administrada conjuntamente se mantiene el tiempo que sea necesario, por ejemplo, la dosificación para inflamación crónica.

[0249] La administración de las composiciones de la invención puede continuar tanto como sea necesario. En algunas realizaciones, una composición de la invención se administra durante más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 o 28 días. En algunas realizaciones, una composición de la invención se administra durante menos de 28, 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 día. En algunas realizaciones, una composición de la invención se administra crónicamente de forma continua, por ejemplo, para el tratamiento del dolor crónico.

[0250] La dosificación para el antagonista LFA-1 en el método de la descripción puede ser encontrado por experimentación de rutina. La dosis diaria puede variar de aproximadamente 1×10^{-7} g a 5000mg. El rango de dosis diaria puede depender de la forma del antagonista de LFA-1, por ejemplo, los ésteres o sales utilizados, y/o la vía de administración, como se describe en este documento. Por ejemplo, para la administración sistémica, los intervalos de

dosis diarios típicos son, por ejemplo, aproximadamente 1-5000 mg, o aproximadamente 1-3000 mg, o aproximadamente 1-2000 mg, o aproximadamente 1-1000 mg, o aproximadamente 1-500 mg, o aproximadamente 1-100 mg, o aproximadamente 10-5000 mg, o aproximadamente 10-3000 mg, o aproximadamente 10-2000 mg, o aproximadamente 10-1000 mg, o aproximadamente 10-500 mg, o aproximadamente 10-200 mg, o aproximadamente 10-100 mg, o aproximadamente 20-2000 mg o aproximadamente 20-1500 mg o aproximadamente 20-1000 mg o aproximadamente 20-500 mg, o aproximadamente 20-100 mg, o aproximadamente 50-5000 mg, o aproximadamente 50-4000 mg, o aproximadamente 50-3000 mg, o aproximadamente 50-2000 mg, o aproximadamente 50-1000 mg, o aproximadamente 50-500 mg, o aproximadamente 50-100 mg, aproximadamente 100-5000 mg, o aproximadamente 100-4000 mg, o aproximadamente 100-3000 mg, o aproximadamente 100-2000 mg, o aproximadamente 100-1000 mg, o aproximadamente 100-500 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria de antagonista de LFA-1 es de aproximadamente 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria del antagonista de LFA-1 es 0,1 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria del antagonista de LFA-1 es 1,0 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria del antagonista de LFA-1 es de 10 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria del antagonista de LFA-1 es de 100 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria de antagonista de LFA-1 es 500 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria de antagonista de LFA-1 es de 1000 mg.

[0251] Los intervalos de dosis diaria típicos son, por ejemplo aproximadamente 1×10^{-7} g a 5,0 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 2,5 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 1,00 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,5 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,25 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,1 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,05 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,025 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 1×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 1×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 5×10^{-4} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5,0g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 2,5g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 1g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 0,5g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 0,25 g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 0,1 g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 1×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 1×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-4} g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 5 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 2,5g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 1g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,5 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,25 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,1 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,05 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a $2,5 \times 10^{-2}$ g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 1×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 1×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 5×10^{-4} g. En algunas realizaciones, la dosis diaria de antagonista de LFA-1 es aproximadamente 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} g, 1×10^{-2} g, 1×10^{-1} g o 1g. En algunas realizaciones, la dosis diaria del antagonista de LFA-1 es 1×10^{-7} g. En algunas realizaciones, la dosis diaria del antagonista de LFA-1 es 1×10^{-5} g. En algunas realizaciones, la dosis diaria de antagonista de LFA-1 es 1×10^{-3} g. En algunas realizaciones, la dosis diaria de antagonista de LFA-1 es 1×10^{-2} g. En algunas realizaciones, la dosis individual varía de aproximadamente 1×10^{-7} g a 5,0g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 2,5g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 1,00g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,5g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,25 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,1 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,05 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 0,025 g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 1×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 1×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-7} g a 5×10^{-4} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5,0g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 2,5g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 1g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 0,5g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 0,25 g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 0,1 g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 1×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 1×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-6} g a 5×10^{-4} g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 5g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 2,5g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 1g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,5g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,25 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,1 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 0,05 g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a $2,5 \times 10^{-2}$ g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 1×10^{-2} g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 5×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a $2,5 \times 10^{-3}$ g, o aproximadamente 1×10^{-5} g a 1×10^{-3} g, o aproximadamente 1×10^{-5} hasta 5×10^{-4} g. En algunas realizaciones, las dosis individuales como se describieron anteriormente, se repiten 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces por día.

[0252] Las composiciones de la invención pueden envasarse en forma multidosis. Se pueden preferir los conservantes para evitar la contaminación microbiana durante el uso. La composición de la invención puede formularse como un tipo de dosis unitaria estéril que no contiene conservantes. Alternativamente, se pueden usar conservantes.

[0253] Los conservantes adecuados para las composiciones de la invención incluyen: cloruro de benzalconio, purita, peróxidos, perboratos, timerosal, clorobutanol, metilparabeno, propilparabeno, alcohol fenilético, edetato disódico, sórbico ácido, Onamer M u otros agentes conocidos por los expertos en la técnica. En algunas realizaciones de la invención, dichos conservantes pueden emplearse a un nivel de 0,004% a 0,02% p/v. En algunas composiciones de la presente solicitud, el conservante, por ejemplo, cloruro de benzalconio, metil parabeno y/o propil parabeno, puede emplearse a un nivel de aproximadamente 0,001% a menos de aproximadamente 0,01%, por ejemplo, de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 0,008%, o aproximadamente 0,005% p/v. Se ha encontrado que una concentración de cloruro de benzalconio de aproximadamente el 0,005% puede ser suficiente para preservar las composiciones de la presente invención del ataque microbiano. Un experto en la materia podría determinar la concentración adecuada de ingredientes, así como las combinaciones de varios ingredientes para generar una formulación tópica adecuada. Por ejemplo, las gotas oftálmicas o formulaciones para la aplicación en la piel pueden

usar una mezcla de metil y propil parabenos a aproximadamente 0,02% P/V y aproximadamente 0,04% P/V respectivamente. En algunas realizaciones, estas formulaciones usan metil parabeno y/o propil parabeno en cantidades de hasta aproximadamente 0,02% p/v y hasta aproximadamente 0,04% p/v respectivamente, lo que abarca las realizaciones en las que no se usa metil parabeno ni propil parabeno.

[0254] La cantidad de administración y el número de administraciones del ingrediente activo usado en la presente invención varía según el sexo, edad y peso corporal del paciente, los síntomas a tratar, efectos terapéuticos deseables, vías de administración y período de tratamiento. Para el suministro al ojo de un adulto, las formulaciones que contienen los compuestos de la divulgación pueden variar en una concentración de aproximadamente 0,0001 a 10,0% en peso, aproximadamente 0,005 a 10,0% en peso, aproximadamente 0,01 a 10,0% en peso, aproximadamente 0,05 a 10,0 p/v%, aproximadamente 0,1 a 10,0 p/v%, aproximadamente 0,5 a 10,0 p/v%, aproximadamente 1,0 a 10,0 p/v%, aproximadamente 20 a 10,0 p/v%, aproximadamente 3,0 a 10,0 p/v%, aproximadamente 4,0 a 10,0 p/v%, o aproximadamente 5,0 a 10,0 p/v%. Una realización de la divulgación tiene una formulación de aproximadamente 1,0 a 10,0% p/v de los compuestos de la divulgación. Una realización de la divulgación tiene una formulación de aproximadamente 0,01 a 10,0% p/v de los compuestos de la divulgación. Una realización de la divulgación tiene una formulación de aproximadamente 5,0 a 10,0% p/v de los compuestos de la divulgación. La administración puede administrarse varias veces al día por ojo, de una a diez veces, de una a cuatro veces, o una vez al día.

[0255] Cuando se usa en las composiciones anteriores, se puede emplear una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento de la presente descripción en forma pura o, cuando tales formas existan, en forma de sal, éster o profármaco farmacéuticamente aceptable. Por "cantidad terapéuticamente efectiva" de un medicamento se entiende una cantidad suficiente del compuesto para obtener el beneficio terapéutico pretendido, a una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. La administración local de antagonistas de LFA-1 eliminados rápidamente de la circulación sistémica puede ser particularmente beneficiosa a este respecto cuando la relación de exposición local a sistémica puede ser de 10 a 10.000 veces o más. En perros y ratas, la biodisponibilidad sistémica del Compuesto 12 del 1% de gotas oftálmicas se ha medido en 6-30%, aunque los niveles de fármaco en la lágrima son >1000x El nivel en plasma. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de los medicamentos y las composiciones de la presente invención será decidido por el médico tratante dentro del alcance del buen juicio médico. El nivel de dosis terapéuticamente efectivo específico para cualquier paciente y medicamento en particular dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, la ruta de administración y la tasa de excreción del medicamento específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos utilizados en combinación o coincidencia con el compuesto específico empleado; y como factores bien conocidos en las técnicas médicas. Por ejemplo, está bien dentro de la habilidad de la técnica comenzar las dosis a niveles inferiores a los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosis hasta que se logre el efecto deseado.

EJEMPLOS

[0256] En los siguientes ejemplos, compuestos 5, 7, 9, 13, 15, 17, 19, 20, 23, 25, 27, 28, 30, 31, 34, 35, 38, 41, 44 y 48 se refieren a la invención. Los compuestos restantes se proporcionan como ejemplos de referencia.

Ejemplo 1: Ensayo de adhesión de células T humanas

[0257] El ensayo de adhesión de células T se realizó usando la línea celular T-linfoide humana HuT 78 (ATCC TIB-161). Anti-HulG de cabra (Fc) se diluyó a 2 µg/ml en PBS y las placas de 96 pocillos se recubrieron con 50 µL/pocillo a 37°C durante 1 h. Las placas se lavaron con PBS y se bloquearon durante 1 hora a temperatura ambiente con BSA al 1% en PBS. 5 dominios ICAM-Ig se diluyeron a 100 ng/ml en PBS y se añadieron 50 µL/pocillo a las placas O/N 4°C. Las células HuT 78 se centrifugaron a 100 g y el gránulo de célula se trataron con EDTA 5 mM durante ~ 5' a 37°C en un 5% de CO₂ incubadora. Las células se lavaron en NaCl 0,14 M, Hepes 0,02 M, glucosa al 0,2% y MnCl₂ 0,1 mM (tampón de ensayo) y se centrifugaron. Las células se resuspendieron en tampón de ensayo a 3,0x10⁶ c/ml. Los inhibidores se diluyeron en tampón de ensayo a una concentración final 2X y se incubaron previamente con células HuT78 durante 30' a temperatura ambiente. Se añadieron 100 µL/pocillo de células e inhibidores a las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron 100 µL/pocillo de PBS y las placas se sellaron y se centrifugaron invertidas a 100 g durante 5'. Las células no unidas se retiraron de la placa y el exceso de PBS se secó sobre una toalla de papel. Se añadieron 60 µL/pocillo de p-nitrofenil n-acetil-β-D-glucosaminida (0,257 g a 100 ml de tampón de citrato) a la placa y se incubaron durante 1,5 h a 37°C. La reacción enzimática se detuvo con 90 µL/pocillo de glicina 50 mM/EDTA 5 mM y se leyó en un lector de placas a 405 nM. La adhesión celular HUT 78 a 5dICAM-Ig se midió usando el método p-nitrofenil n-acetil-β-D-glucosaminida de Landegren, U. (1984). J. Immunol. Métodos 57, 379-388. Los resultados se muestran en la **Figura 1**.

Ejemplo 2: LFA-1: Ensayo de unión al receptor ICAM-1 usando el ensayo de formato directo

[0258] La inhibición competitiva de la interacción LFA-1: ICAM-1 se cuantifica mediante la adición de cantidades conocidas de inhibidores.

[0259] La proteína LFA-1 humana recombinante de longitud completa purificada se diluye a 2,5 µg/ml en 0,02 M de Hepes, 0,15M NaCl, y 1 mM MnCl₂ y las placas de 96 pocillos (50 µL/pocillo) se recubren durante la noche a 4°C. Las placas se lavan con tampón de lavado (Tween al 0,05% en PBS) y se bloquean durante 1 hora a temperatura ambiente con BSA al 1% en Hepes 0,02 M, 0,15M NaCl y 1 mM MnCl₂. Las placas se lavan. Los inhibidores de 50 µL/pocillo, adecuadamente diluidos en tampón de ensayo (BSA al 0,5% en Hepes 0,02 M, 0,15 M NaCl y 1 mM MnCl₂), se agregan a una concentración final 2X y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añaden 50 µL/pocillo de 5 dominios humanos recombinantes purificados ICAM-Ig, diluidos a 50 ng/ml en tampón de ensayo, y se incuban 2 h a temperatura ambiente. Las placas se lavan y se detecta ICAM-Ig unida con CaBra anti-HulG (Fc)-HRP durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan y se desarrollan con sustrato TMB de 100 µL/pocillo durante 10-30' a temperatura ambiente. El desarrollo colorimétrico se detiene con 100 µL/pocillo 1M H₂PO₄ y se lee a 450 nm en un lector de placas.

Ejemplo 3: Inhibición in vitro de la liberación estimulada por antígeno de citocinas de monocitos de sangre periférica humana (PBMC)

[0260] Se evaluó una forma del antagonista de LFA-1 de Fórmula I, Compuesto 12, por su capacidad para inhibir la liberación de citocinas inflamatorias, en células mononucleares humanas (PBMC) estimuladas con enterotoxina B estafilocócica (SEB). Reserva de soluciones del Compuesto 12, rebamipida (un agente protector de la mucosa), y ciclosporina A (CsA) se prepararon en cultivo de medios y las diluciones se prepararon mediante la adición de medios de cultivo para conseguir la concentración deseada. Los controles negativos se prepararon sin estimulación SEB. La estimulación SEB con vehículo (0,25% DMSO/medio) se utilizó como control positivo.

[0261] PBMC humano, congelado en los medios de crioconservación se descongelaron, se lavaron con medio de cultivo RPMI que contiene 10% de SFB en medio de crecimiento y se sembraron en una placa de 96 pocillos a 20.000 células/pocillo que contenía 180 µL de medios de cultivo. Las células se incubaron en presencia del Compuesto 12, Rebamipida o CsA a 37°C durante 1 hora antes de la estimulación con SEB. SEB se añadió a 1 ng/ml y los sobrenadantes celulares se recogieron a las 6, 16 y 48 horas. Los niveles de citoquinas en los sobrenadantes del ensayo se determinaron usando un ensayo multiplex Luminex.

[0262] El compuesto 12 demostró una potente inhibición de la liberación de citoquinas inflamatorias, en particular las células de regulación de citoquinas T, IL-2 e IL-4, con el aumento de dosis. Los resultados se muestran en las Tablas 1, 2 y 3. Además, la inhibición in vitro de la liberación de IL-2 para varios antagonistas de LFA-1 se muestra en la **Figura 1**. El patrón de liberación de citocinas inhibido en más del 50% con el Compuesto 12 es similar a lo visto en comparación con CsA. Las excepciones a esta similitud incluyen IL-3, 11-6 e IL-12p40.

Tabla 1. Concentraciones de CE50 para la inhibición de IL-2, IFN γ , MIP-1 α y TNF- α .

	CE50 µM liberación de citoquinas			
	IL-2	IFN γ	MIP-1 α	TNF- α
Compuesto 12	0,0018	0,0016	0,020	0,076
Rebamipida	>1000	>1000	>1000	>1000
Ciclosporina A	0,00094	0,00050	0,0011	0,00049

Tabla 2. Concentraciones de CE50 para la inhibición de IL-4, IL-10, IP-10 GM-SF y MCP-1.

	CE50 µM liberación de citoquinas				
	IL-4	IL-10	IP-10	GM-SF	MCP-1
Compuesto 12	0,143	0,147	1,158	0,545	0,0050
Rebamipida	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Ciclosporina A	0,0063	0,0292	0,167	0,0202	0,0926

Tabla 3. Concentraciones de CE50 para la inhibición de IL-1 α , IL-1 β , IL-3, IL-5, IL-6, IL-12p40 e IL-13.

	CE50 µM liberación de citoquinas						
	IL-1 α	IL-1 β	IL-3	IL-5	IL-6	IL-12p40	IL-13
Compuesto 12	0,24	0,36	52,23	0,11	43,51	>1000	0,36
Rebamipida	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Ciclosporina A	0,002	0,003	0,002	0,073	0,001	0,002	0,074

Ejemplo 4: Formulaciones del antagonista de LFA-1

[0263] Se formuló un compuesto de Fórmula I (Compuesto 12) en varias composiciones para administración como geles, lociones, ungüentos y soluciones, para administración por rutas variables, que incluyen pero no se limitan a tópico, mediante instilación, aerosol, parche transdérmico, mediante inserto o administración oral.

Tabla 4. Formulaciones de gel 1 y 2 del Compuesto 12.

Formulación 1 (% p/p)	Formulación 2 (% p/p)
1% Forma A del Compuesto 12	1% Forma A del Compuesto 12
15% de dimetil isosorbida	15% de dimetil isosorbida
25% de transcutool	25% de transcutool
12% de hexilenglicol	12% de hexilenglicol
5% de propilenglicol	5% de propilenglicol
0,15% de metilparabeno	0,15% de metilparabeno
0,05% de propilparabeno	0,05% de propilparabeno
0,01% EDTA	0,01% EDTA
0,5% Penmulen TR-1	1% de hidroxietilcelulosa
qs pH 6,0 25% Trolamina	qs pH 4,5 Trolamina al 25%
qs 100 agua	qs 100 agua

Tabla 5. Formulaciones de loción 3 y 4 del Compuesto 12.

Formulación 3 (% p/p)	Formulación 4 (% p/p)
1% Forma A	1% Forma A
13% de dimetil isosorbida	13% de dimetil isosorbida
20% de transcutool	20% de transcutool
10% de hexilenglicol	10% de hexilenglicol
4% de propilenglicol	4% de propilenglicol
0,15% de metilparabeno	0,15% de metilparabeno
0,05% de propilparabeno	0,05% de propilparabeno
0,01% EDTA	0,01% EDTA
0,5% Carbopol Ultrez 10	0,3% Carbopol Ultrez 10
0,2% Penmulen TR-1	0,2% Penmulen TR-1
3% de miristato de isopropilo	2% de alcohol cetílico
5% de alcohol oleílico	5,5% de aceite mineral ligero
5% de vaselina blanca	5% de ácido oleico
0,02% de hidroxitolueno butilado	0,02% de hidroxitolueno butilado
qs pH 6,0 25% Trolamina	qs pH 6,0 25% Trolamina
qs 100 agua	qs 100 agua

Tabla 6. Formulaciones de ungüento 5 y 6 del Compuesto 12.

Formulación 5 (% p/p)	Formulación 6 (% p/p)
1% Forma A	1% Forma A
15% PEG400	10% de dimetil isosorbida
0,02% de hidroxitolueno butilado	0,02% de hidroxitolueno butilado
2% Span 80	2% Span 80
10% cera blanca	10% cera blanca
71,98% de vaselina blanca	76,98% de vaselina blanca

Tabla 7. Formulaciones de solución 7, 8 y 9 del Compuesto 12.

Formulación 7 (% p/p)	Formulación 8 (% p/p)	Formulación 9 (% p/p)
1% Forma A	1% Forma A	1% Forma A
15% de dimetil isosorbida	15% de dimetil isosorbida	99% de dimetil sulfóxido

(Continuación)

Formulación 7 (% p/p)	Formulación 8 (% p/p)	Formulación 9 (% p/p)
25% de transcitol	25% de transcitol	
12% de hexilenglicol	12% de hexilenglicol	
5% de propilenglicol	5% de propilenglicol	
qs pH 4,5 Trolamina al 25%	qs pH 6,0 25% Trolamina	
qs 100 agua	qs 100 agua	

Tabla 8. Formulaciones de solución 10, 11, 12, 13 y 14 del Compuesto 12.

P/P%	Formulación 10	Formulación 11	Formulación 12	Formulación 13	Formulación 14
Forma A	0,1%	0,3%	1%	3%	5%
Bicarbonato de sodio	0,015%	0,046%	0,15%	0,46%	0,77%
	0,1% EDTA				
	0,12% de fosfato de sodio, monobásico				
	0,4% de metilparabeno				
	0,02% de propilparabeno				
	qs Osmolalidad 270, cloruro de sodio				
	qs pH 7,01% Hidróxido de sodio				
	qs pH 7,0 1% HCl				
	qs agua				

Tabla 9. Formulación de solución 15 del Compuesto 12.

Formulación 15
1 ml de una solución de Compuesto 12 10% P/P en agua, más 0,158 mmol de bicarbonato de sodio
9 ml de PBS

[0264] El compuesto 12 se puede suministrar como una solución líquida estéril, transparente e incolora que contiene 0,1%, 1,0% y 5,0% (p/p) Concentraciones de ingredientes farmacéuticos activos (API) (pH 7,0). Cada ml de una solución al 1% contiene 10 mg del ingrediente activo. Además del Compuesto 12, otros componentes de una solución de medicamento, sus funciones y su grado de competencia pueden incluir propilparabeno (conservante; Formulario Nacional (NF)), metilparabeno (conservante, NF), EDTA (antioxidante, Farmacopea de los Estados Unidos (USP)), bicarbonato de sodio (agente tamponador, USP), fosfato de sodio monobásico (agente tamponador, USP), fosfato de sodio dibásico (agente tamponador, USP) y agua estéril (diluyente, USP). Todos los excipientes pueden ser de grado competitivo y de origen no humano o no animal.

[0265] La solución de producto farmacológico formulado puede envasarse en condiciones asépticas en botellas estériles de polietileno de alta densidad (HDPE) de 7,0 ml equipadas con una punta cuentagotas que proporciona un volumen aproximado por gota de 0,35 µL y una tapa protectora. La botella cuentagotas puede tener una punta de 40 µL. El fármaco de estudio no conservado (sin metil ni propilparabenos en la formulación) se puede proporcionar en recipientes de polietileno de baja densidad (LDPE) de dosis unitaria de 0,5 ml fabricados mediante un proceso de sellado de llenado por soplado y almacenados en bolsas de aluminio.

[0266] Las soluciones farmacológicas pueden almacenarse refrigeradas (2-8°C). La estabilidad del medicamento a 5°C y 25°C puede ser de hasta 9 meses o más.

Ejemplo 5: Absorción percutánea in vitro del compuesto de fórmula I después de la aplicación tópica.

[0267] La biodisponibilidad después de la aplicación tópica in vivo se evaluó utilizando métodos de prueba de absorción percutánea in-vitro, utilizando procedimientos adaptados de Skelly et al., Pharmaceutical Research 1987 4 (3): 265-276, "FDA and AAPS Report of the Workshop on Principles and Practices of In-Vitro Percutaneous Penetration Studies: Relevance to Bioavailability and Bioequivalence".

[0268] Las formulaciones 1-9 se aplicaron a tejido de la piel humana con dermatoma extirpado de un único donante en un solo clínicamente dosis relevante de 5 mg/cm², que es equivalente a un 30-35 µg dosis. El espesor del tejido varía de 0,023 a 0,039 pulgadas (0,584 a 0,991 mm) con una desviación estándar media +/- en el grosor de 0,030 +/- 0,004 pulgadas (0,773 +/- 0,111 mm) y un coeficiente de variación del 14,4%. Las muestras de tejido se montaron en células de difusión de flujo de Bronaugh. Las células se mantuvieron a una temperatura constante de 32°C utilizando

baños de agua recirculante. Las células tienen un área de difusión nominal de 0,64 cm². Se usó PBS, a pH 7,4, con azida de sodio al 0,1% y albúmina de suero bovino al 4% como la fase del receptor por debajo del tejido montado. La fase del receptor fresco se bombeó continuamente por debajo del tejido a un caudal nominal de 1,0 ml/h y se recogió en intervalos de 6 horas. Las fases del receptor se recogieron para análisis.

[0269] Las muestras de tejido se expusieron a las formulaciones 1-9 durante 24 horas. El exceso de formulación que residía en el estrato córneo en ese punto temporal se eliminó mediante cinta adhesiva con discos de cinta CuDerm D-Squame. Las tiras de cinta fueron desechadas. La epidermis y la dermis se separaron por disección roma. La fase de la epidermis, la dermis y el receptor se analizaron para el contenido del Compuesto 12. Los resultados se representan en la Tabla 10.

[0270] Los niveles de permeación de tejidos (la fase del receptor) del Compuesto 12 para todas las formulaciones, excepto la Formulación 9, que contenía 99% de DMSO, estaban por debajo de los límites de cuantificación, que era 0,54ng/ml (que es equivalente a 0,013% del dosis aplicada). La formulación 9, en cambio, proporcionó el 1,4% de la dosis aplicada, impregnando todas las capas del tejido de la piel durante el período de exposición de 24 horas.

[0271] La deposición epidérmica del Compuesto 12 durante el período de exposición de 24 horas fue muy alta y consistente con un gran porcentaje de la dosis aplicada retenida en las capas superiores de la epidermis. Los niveles informados en la Tabla 10 se obtuvieron a partir de muestras de pequeño volumen, que no se pudieron volver a analizar, y por lo tanto se consideran subestimadas de la cantidad de fármaco presente en la epidermis.

[0272] Los datos analíticos para la dermis cayeron dentro del rango de linealidad establecido para el Compuesto 12, y son cuantitativos. La deposición dérmica del Compuesto 12 después de una exposición de 24 horas varió de 0,66% (Formulación 6, 0,258 µg/cm²) a 4,4% (Formulación 7, 2,08 µg/cm²) de la dosis aplicada. La concentración del Compuesto 12 (633,5 g/mol) en la dermis se calcula por lo tanto como 6,7 µM (Formulación 6) o mayor (es decir, la Formulación 7 proporciona una concentración en la dermis de 54,1 µM) para las Formulaciones 1 a 9 en el dermis. Estas concentraciones están muy por encima de la concentración de CE50 in vitro para un efecto medio máximo en la inhibición de la liberación de citocinas inflamatorias por el Compuesto 12, como se muestra en el Ejemplo 3. Estos resultados son, por lo tanto, predictivos de la capacidad de una variedad de formulaciones, que incorporan 1% de P/P Compuesto 12, para proporcionar niveles terapéuticamente efectivos de inhibición in vivo de la liberación de citocinas.

Tabla 10. Fase de receptor acumulativo y niveles de tejido del compuesto 12 después de 24 horas de exposición tópica.

Formulación n°	Contenido de la fase del receptor a las 24 horas		Epidermis		Dermis		
	µg/cm ²	% de dosis aplicada	µg/cm ²	% de dosis aplicada	µg/cm ²	µg/ml	% de dosis aplicada
1	Media	<Límite de cuantificación	3,93	7,48	1,14	18,8	2,15
	DE ¹		2,92	5,50	0,91	14,9	1,73
	% CV ²		74	74	80	80	80
2	Media	<Límite de cuantificación	6,03	11,9	0,750	12,3	1,49
	DE		2,56	5,1	0,304	5,0	0,63
	%CV		43	42	40	40	42
3	Media	<Límite de cuantificación	6,03	12,1	1,40	23,0	2,74
	DE		2,97	6,4	0,27	4,4	0,47
	%CV		49	53	19	19	17
4	Media	<Límite de cuantificación	7,92	17,0	0,975	16,0	2,10
	DE		3,41	7,2	0,350	5,8	0,75
	%CV		43	42	36	36	36

(Continuación)

Formulación nº	Contenido de la fase del receptor a las 24 horas			Epidermis		Dermis		
	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	% de dosis aplicada		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	% de dosis aplicada	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{ml}$	% de dosis aplicada
5	Media	<Límite de cuantificación	de	5,71	14,6	0,670	11,0	1,71
	DE ¹			1,73	4,2	0,351	5,8	0,87
	% CV ²			30	29	52	52	51
6	Media	<Límite de cuantificación	de	6,47	16,8	0,258	4,25	0,657
	DE			1,07	2,7	0,158	2,6	0,394
	%CV			17	16	61	61	60 60
7	Media	<Límite de cuantificación	de	7,22	15,0	2,08	34,3	4,35
	DE			2,15	4,5	0,84	13,7	1,83
	%CV			30	30	40	40	42
8	Media	<Límite de cuantificación	de	8,58	18,0	1,48	24,3	3,09
	DE			3,53	7,7	0,99	16,2	2,07
	%CV			41	43	67	67	67
9	Media	0,660	1,43	5,78	13,2	1,19	19,6	2,63
	DE	0,253	0,49	3,18	8,3	0,49	8,1	1,15
	%CV	38	34	55	63	41	41	44
1. Desviación estándar. 2. Porcentaje de coeficiente de variación.								

Ejemplo 6: Actividad farmacológica del Compuesto 12 para el tratamiento de la queratoconjuntivitis sicca (KCS) (Ejemplo de referencia)

[0273] Los perros se inscribieron en este estudio si los siguientes criterios se cumplieron: más de un año de edad, una prueba de lágrima de Schimer (STT) de menos de 10 mm de humectación por minuto, compromiso bilateral y al menos uno de los siguientes signos clínicos: blefaroespasmo, hiperemia conjuntival, queratopatía por exposición (superficie irregular), pigmentación corneal, neovascularización corneal o secreción mucopurulenta, sin KCS congénito, sin KCS traumático, KCS tóxico y sin parálisis del nervio facial. Si los perros habían sido tratados con CsA tópico o tacrolimus en los seis meses anteriores, no estaban inscritos.

[0274] Se administró a los perros una gota de 35 μl de solución de compuesto al 12,1% (Formulación 15, 0,35 mg/ojo), en cada ojo afectado tres veces al día, con aproximadamente 4 horas (± 1 hora) entre las dosis diarias. por 12 semanas. La CsA se administrará durante otras cuatro semanas administrando ungüento al 0,2% disponible comercialmente tres veces al día, después de que el Compuesto 12 se suspende a las doce semanas.

[0275] Los animales se sometieron a un examen ocular una vez durante la visita inicial y durante cinco visitas durante 16 semanas del estudio (semanas, 2, 4, 8, 12 y 16). La última OE fue aproximadamente cuatro semanas después de la última dosis del Compuesto 12 y después de un mes de tratamiento con CsA. Los anexos y las porciones anteriores de ambos ojos se examinaron utilizando un oftalmoscopio indirecto. Los ojos se dilataron con un midriático cuando correspondía, para permitir la evaluación de la lente y el fondo, incluida la retina. Se realizó una evaluación utilizando un sistema de puntuación McDonald-Shaddock modificado junto con los exámenes oculares de la lámpara de hendidura en cada intervalo.

[0276] Las lágrimas se midieron usando tiras de STT durante la visita inicial y cada una de las cinco visitas de seguimiento en las semanas 2, 4, 8, 12 y 16. Se usó una tira de papel STT para cada ojo para cada intervalo. En cada intervalo de recolección, el papel STT se dobló y se colocó en el fondo de saco inferior durante sesenta segundos. Se registró la longitud, en mm, de humectación por debajo de la muesca del papel.

[0277] Fluoresceína y tinción con rosa de bengala se realizó en el cada uno de los exámenes iniciales y de seguimiento. Las mediciones de presión intraocular (PIO) se realizaron con un Tono-Pet Vet® junto con cada uno de los OE. Se tomaron imágenes oculares digitales antes y después de la tinción (con fluoresceína y rosa de bengala) durante cada uno de los OE.

[0278] Se tomaron biopsias conjuntivales en la visita inicial (pretratamiento) y la visita Semana 12. La segunda biopsia se tomó más lateralmente (aproximadamente 1 mm) a la biopsia inicial. Después de la preparación adecuada, se tomó una pequeña biopsia conjuntival del fórnix ventral de cada ojo.

[0279] Siete perros completaron el estudio; para dos perros, solo se estudió un ojo. Los resultados se muestran en las

Tablas 11 y 12. En general, se observó una mejora promedio de 3,3 mm en el STT de OD (ojo derecho) y STT de 4,5 mm en OS (ojo izquierdo) durante el período de tratamiento con Compuesto 12. Los resultados para los 12 ojos muestran una mejora promedio de 4 mm. Se realizó un análisis Máximo-Mínimo usando el cambio máximo en los valores de STT para cada ojo en cada perro durante las semanas 1-12, como se muestra en la Tabla 13. Este cálculo produce un cambio máximo total en STT para el total de ojos de 72 mm, que tras la división por 12 (número de ojos KCS en el análisis), produce una mejora promedio de 6,0 mm. Otros signos clínicos mejoraron en algunos perros, como una disminución en la descarga mucopurulenta o eritema conjuntival. La evaluación histopatológica de las biopsias tomadas antes y después del Compuesto 12 reveló una atenuación de la acumulación de linfocitos. La **Figura 2** ilustra este fenómeno en muestras tomadas del perro n° 1. No se observaron beneficios adicionales significativos de las cuatro semanas posteriores de administración de CsA.

Tabla 11. Resultados de la prueba de lágrima de Schirmer (OD).

ID de perro	Semana 1	Semana 2	Semana 4	Semana 8	Semana 12	Semana 16
1	15	18 años	12	16	13	12
2	0	2	0	8	8	8
3	6	11	5	7	7	8
4	5	11	10	7	13	8
5	8	11	10	11	9	22**
6	8	10	15	17	16	18 años
7	6	2	2	1	0	12
Media *	5,5	7,8	7,0	8,5	8,8	11,7
* El perro n° 1 no está incluido en el análisis medio o máximo-mínimo para OD ya que no hay KCS en ese ojo para ese animal. ** Los datos para el Perro n° 5 son anómalos para este día y no se incluyen en el análisis medio o Máximo-Mínimo.						

Tabla 12. Resultados de la prueba de lágrima de Schirmer (OS).

ID de perro	Semana 1	Semana 2	Semana 4	Semana 8	Semana 12	Semana 16
1	0	0	0	0	3	3
2	0	0	0	2	7	5
3	9	14	7	17	15	16
4	0	3	5	6	4	7
5	7	8	14	8	8	19
6	9	4	14	8	8	17
7	18	N/A	N/A	19	18	18
Media *	4,2	4,8	6,7	6,5	8,7	11,0
* Perro n° 7 no incluido en el análisis medio o máximo-mínimo para el sistema operativo ya que no hay KCS en ese ojo para ese animal.						

Tabla 13. Análisis máximo-mínimo para las semanas 1-12 de la administración del compuesto 12.

OD	OS	OD total más OS total: 72
N/A	3	
8	7	Gran total/número de ojos elegibles: 6,0 mm de mejora promedio
5	10	
8	6	
3	7	
8	11	
-4	N/A	
Total = 28	Total = 44	

[0280] La Figura 3 ilustra el cambio medio en la puntuación de la prueba de Schirmer en las semanas 2, 4, 8 y 12. La mejora significativa en las puntuaciones de la prueba de Schirmer sobre el pretratamiento fue observado en la semana 12.

[0281] La Figura 4 ilustra el porcentaje de ojos con una puntuación de prueba de Schirmer de más de 10 mm a las 2, 4, 8 y 12 semanas con 1% de Compuesto 12 (TID). Los resultados del estudio de KCS canino compuesto 12

excedieron los datos de CsA humana. La base de la aprobación de restasis fue una mejora de la puntuación de la prueba de Schirmer a más de 10 m. El tratamiento de restasis resultó en el 15% de los ojos con una puntuación de prueba de Schirmer mayor de 10 mm.

5 **[0282]** La Figura 5 ilustra el porcentaje de ojos con una mejora de más de 4 mm en la puntuación de la prueba de Schirmer a las 2, 4, 12, 16 y 26 semanas para sujetos tratados con 1% de Compuesto 12 (tid) o 2% de CsA (bid) (utilizando datos históricos de CsA; Morgan et al., J. Am. Vet. Med. Assoc., 199, 1043-1046 (1991)). El curso del tiempo compuesto 12 fue similar a los datos históricos de CsA.

10 **[0283]** En resumen, el estudio Canine KCS demostró que administrar el Compuesto 12 resultó en una mejora rápida en la puntuación de la prueba de Schirmer en 2-8 semanas, mejora en la histología y efecto antiinflamatorio rápido.

Ejemplo 7: Ensayo de proliferación de células T:

15 **[0284]** Este ensayo es un modelo in vitro de proliferación de linfocitos resultante de la activación, inducida por el compromiso del receptor de células T y LFA-1, tras la interacción con las células presentadoras de antígeno (Springer, Nature 346: 425 (1990)).

20 **[0285]** Las placas de microtitulación (Nunc de 96 pocillos con certificación ELISA) se recubren previamente durante la noche a 4°C. con 50 µL de 2 µg/ml anti-Fc humano de Cabra (Caltag H10700) y 50 µL de 0,07 m anticuerpo monoclonal g/ml a CD3 (Immunotech 0178) en PBS estéril. Al día siguiente se aspiran soluciones de recubrimiento. Las placas se lavan dos veces con PBS y se añaden 100 µl de 17 ng/ml de 5d-ICAM-1-IgG durante 4 horas a 37°C. Las placas se lavan dos veces con PBS antes de la adición de células T CD4+. Los linfocitos de la sangre periférica se separan de la sangre entera heparinizada extraída de donantes sanos. Un método alternativo es obtener sangre completa de donantes sanos a través de la leucoforesis. La sangre se diluye 1: 1 con solución salina, se estratifica y se centrifuga a 2500Xg durante 30 minutos en LSM (6,2 g de Ficoll y 9,4 g de diztrizoato de sodio por 100 ml) (Organon Technica, NJ). Los monocitos se agotan utilizando un método de reactivo de agotamiento de células mieloides (Myeloclear, Cedarlane Labs, Hornby, Ontario, Canadá). Los PBL se resuspenden en suero fetal bovino inactivado por calor al 90% y DMSO al 10%, se separan en alícuotas y se almacenan en nitrógeno líquido. Después de descongelar, las células se resuspenden en medio RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, NY) suplementado con suero fetal bovino inactivado por calor al 10% (Intergen, Purchase, NY), piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 3 mM, 1 mM aminoácidos no esenciales, 500 µg/ml de penicilina, 50 µg/ml de estreptomycin, 50 µg/ml de gentamicina (Gibco).

35 **[0286]** La purificación de las células T CD4+ se obtiene mediante un método de selección negativa (Kit de columna de recuperación de células CD4 humanas nº CL110-5 precisa). Se cultivan 100.000 células T CD4+ purificadas (90% de pureza) por pocillo de placa de microtitulación durante 72 horas a 37°C. en 5% de CO₂ en 100 ml de medio de cultivo (RPMI 1640 (Gibco) suplementado con 10% de FBS inactivado por calor (Intergen), aminoácidos no esenciales 0,1 mM, piruvato de sodio 1 mM, 100 unidades/ml de penicilina, 100 µg/ml Estreptomycin, 50 µg/ml de Gentamicina, Hepes 10 mM y Glutamina 2 mM). Los inhibidores se agregan a la placa al inicio del cultivo. Las respuestas proliferativas en estos cultivos se miden mediante la adición de 1 µCi/timidina bien titulada durante las últimas 6 horas antes de la recolección de células. La incorporación del marcador radiactivo se mide mediante el recuento de centelleo líquido (cosechadora y contador Packard 96). Los resultados se expresan en cuentas por minuto (cpm).

Ejemplo 8: Modelo de cultivo de linfocitos mixtos in vitro

45 **[0287]** El modelo de cultivo de linfocitos mixtos, que es un modelo de trasplante in vitro (AJ Cunningham, "Understanding Immunology, Transplantation Immunology" páginas 157-159 (1978) examina los efectos de varios LFA-1 antagonistas tanto en el brazo proliferativo como en el efector de la respuesta de linfocitos mixtos humanos.

50 **[0288]** Aislamiento de células: las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se separan de la sangre entera heparinizada extraída de donantes sanos. La sangre se diluye 1: 1 con solución salina, estratificada y centrifugada a 2500Xg durante 30 minutos en LSM (6,2 g de Ficoll y 9,4 g de diztrizoato de sodio por 100 ml) (Organon Technica, NJ). Un método alternativo es obtener sangre completa de donantes sanos a través de leucoforesis. Las PBMC se separan. como arriba, resuspendidas en 90% de suero fetal bovino inactivado por calor y DMSO al 10%, alícuotado y almacenado en nitrógeno líquido. Después de descongelar, las células se resuspenden en medio RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, NY) suplementado con suero fetal bovino inactivado por calor al 10% (Intergen, Purchase, NY), piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 3 mM, 1 mM aminoácidos no esenciales, 500 µg/ml de penicilina, 50 µg/ml de estreptomycin, 50 µg/ml de gentamicina (Gibco).

60 **[0289]** Respuesta mixta de linfocitos (MLR): una forma en que se establecen cultivos de linfocitos mixtos humanos es en placas de microtitulación de fondo plano de 96 pocillos. Se cultivan conjuntamente 1,5x10⁵ PBMC de respuesta con un número igual de alogénicos irradiados (3000 rads durante 3 minutos, 52 segundos de estimulador PBMSc en 200 µl de medio completo. Se agregan antagonistas de LFA-1 al inicio de los cultivos. Los cultivos se incuban. a 37°C en 5% de CO₂ durante 6 días, luego pulsado con 1 µCi/pocillo de 3H-timidina (6,7 Ci/mmol, NEN, Boston, Massachusetts) durante 6 horas. Los cultivos se cosechan en una cosechadora de células Packard (Packard, Canberra, Canadá). La incorporación de [³H] TdR se mide por recuento de centelleo líquido. Los resultados se expresan como recuentos por

minuto (cpm).

Ejemplo 9: Ensayo de adhesión de células T usando células Jurkat

5 **[0290]** El propósito de este estudio fue evaluar las propiedades antiadhesivas del Compuesto 12 sobre la unión de las células Jurkat a ICAM-1 después de la exposición *in vitro*.

10 **[0291]** Las soluciones madre del Compuesto 12 y el control positivo se prepararon en DMSO/agua (1: 1) y diluido en medios de ensayo y las diluciones posteriores se prepararon mediante la adición de medios de ensayo para lograr la concentración deseada. Se usó un antagonista de LFA-1 informado como control positivo.

15 **[0292]** Las células Jurkat se marcaron con una solución de 8 μ M de BCECF-AM (2',7'-bis-(2-carboxietil)-5-(y-6) carboxifluoresceína) en medio de crecimiento a temperatura ambiente durante 15 minutos. Las células marcadas se incubaron en 70 μ l de medio de ensayo en cada pocillo de una placa de 96 pocillos a 500.000 células por pocillo con 70 μ l de compuesto 12 o control positivo en medio de ensayo a 37°C durante 30 minutos. Se dejó sedimentar una parte alícuota de 100 μ l de esta suspensión de células Jurkat marcadas con fluorescencia en presencia del Compuesto 12 o el control positivo en pocillos de una placa de 96 pocillos recubierta con ICAM-1 humana recombinante expresada como una quimera Fc a 37°C durante 1 hora. Las células no adherentes se eliminaron mediante lavado y centrifugación a 100 g durante 1 minuto. Las células adherentes se determinaron como unidades fluorescentes adherentes en un lector de placa fluorescente. El artículo de prueba, Compuesto 12, demostró la inhibición de la unión de células Jurkat con dosis crecientes. La curva de respuesta a la dosis y CI_{50} del Compuesto 12 en este ensayo fue comparable a la del conocido competitivo LFA-1 antagonista directo. Esto demuestra que el Compuesto 12 es un antagonista de la unión de LFA-1/ICAM-1.

25 **Ejemplo 10: Queratitis corneal por pseudomonis murina (ejemplo de referencia)**

30 **[0293]** La córnea es normalmente clara y libre de leucocitos. La infección bacteriana induce reclutamiento de leucocitos mediado por el complemento e inflamación en la córnea. Se ha desarrollado un modelo murino de queratitis por neutrófilos que inserta un número definido de *Pseudomonas* matadas por tobramicina en un corte quirúrgico en la córnea. La entrada de neutrófilos y la turbidez corneal se puntúan a las 24 horas. El sistema proporciona un modelo farmacodinámico de adhesión de neutrófilos en la vasculatura y la migración al tejido. El sistema ha sido descrito en Sun Y. y Pearlman E. (2009) Invest Ophthalmol Vis Sci. 50: 1247-54.

35 **Ejemplo 11: Seguridad y tolerancia preclínicas y clínicas: resultados de pk y distribución sistémica y local (Ejemplo de referencia)**

A. EFECTOS EN HUMANOS

1. Fase 1 Compuesto de ensayo clínico 12

40 **[0294]** Fase 1 de un solo centro aleatorizado, prospectivo, doble enmascarado, placebo Se realizó un estudio controlado de dosis crecientes de la Solución oftálmica del Compuesto 12 tópico en 4 cohortes (dosis de 0,1%, 0,3%, 1% y 5% del Compuesto 12) en 28 adultos sanos (7 sujetos por cohorte: 5 recibieron la Solución oftálmica del Compuesto 12 y 2 recibieron solución de placebo). Los objetivos del ensayo fueron medir la seguridad y la tolerabilidad, y la farmacocinética en lágrimas y plasma. El horario de dosificación (OU; Oculus Uterque (cada ojo o ambos ojos)) se dividió en 3 períodos, cada uno separado por un intervalo de lavado de 72 horas: una vez/día x 1 día (fármaco un ojo; ojo del placebo), dos veces/día x 10 días, y tres veces/día x 10 días, observación de 14 días. El examen con lámpara de hendidura del ojo, BCVA (agudeza visual mejor corregida), STT (prueba de lágrima de Schirmer), TBUT (tiempo de ruptura de lágrima), PIO (presión intraocular) se evaluaron en el cribado y al comienzo y al final de cada período. Para cada cohorte, un Comité de Seguridad revisó los datos de seguridad enmascarados antes de permitir el aumento de la dosis de la próxima cohorte. Se administraron un total de 2856 dosis (102 gotas/sujeto) durante 1148 días de estudio del sujeto total (41 días de estudio/sujeto) en 56 ojos. Todos los sujetos en todas las cohortes completaron el estudio, y no se omitieron las dosis de drogas del estudio.

55 **[0295]** No se produjeron muertes, interrupciones, efectos adversos oculares o no oculares graves o graves (efectos adversos) relacionados con la administración de la solución oftálmica del compuesto 12 a cualquier fuerza de dosis o en cualquier régimen de dosis.

60 **[0296]** La presión arterial, la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, la temperatura, el peso corporal y los resultados de EKG estuvieron dentro de los intervalos normales durante todo el ensayo.

65 **[0297]** Todos los resultados hematológicos y todos menos uno de los resultados de la química del suero estuvieron dentro de los rangos normales sin tendencias observables relacionadas con el fármaco del estudio medidas a lo largo de la duración del estudio, la dosis-dosis o el calendario. El recuento total de linfocitos, los recuentos de células CD3, CD4 y CD8 estuvieron dentro de los rangos normales sin evidencia de supresión de linfocitos o neutrófilos. Los resultados del análisis de orina no fueron notables durante todo el ensayo.

[0298] Los resultados de la química del suero estuvieron dentro del rango normal sin tendencias observables relacionadas con el fármaco del estudio medidas a lo largo de la duración del estudio, la fuerza de dosis o el calendario.

[0299] No se produjeron efectos adversos oculares o no oculares graves o graves durante el estudio; hubo 38 eventos adversos oculares ($N = 11$ sujetos) y 21 no oculares ($N = 11$ sujetos), respectivamente. No hubo tendencias en la frecuencia de eventos adversos oculares cuando se analizaron por grupo de dosis o por período de estudio. No se observaron tendencias de seguridad significativas en las evaluaciones de BCVA, biomicroscopía con lámpara de hendidura, STT, TBUT o IOP, ni hubo evidencia de infección ocular o inmunosupresión localizada. No hubo evidencia de irritación o infección ocular localizada.

[0300] No hubo tendencias en la frecuencia de los AE no oculares cuando se analizaron por grupo de dosis o por período de estudio. No se observaron tendencias de seguridad significativas en los signos vitales, EKG, estudios de laboratorio (química, funciones hepáticas, paneles de sangre); no hubo evidencia de supresión de células T CD3, CD4 o CD8, supresión de médula ósea o evidencia clínica de aumento de infecciones.

2. Farmacocinética en lágrimas y plasma

[0301] Se obtuvieron muestras de plasma y lágrimas al inicio y durante los intervalos programados en cada período de dosificación para caracterizar la farmacocinética (PK) de la solución oftálmica del compuesto 12 después de la administración ocular.

a. Análisis de PK en plasma

[0302] Se obtuvieron muestras para el análisis del Compuesto 12 en plasma antes de la dosis, a los 5 y 30 minutos después de la dosis, y a las 1, 4, 8, 24 horas después de la dosis los días 1, 5, 14, 18 y 27. También se obtuvieron muestras a las 48 horas después de la dosis en los días 1, 14 y 27 y se recogió una sola muestra de sangre en la visita de seguimiento al final del estudio. Las concentraciones del compuesto plasmático 12 se determinaron usando un método validado LC/MS/MS (espectrometría de masas en tándem de cromatografía líquida) con un LLOQ (límite inferior de cuantificación) de 0,500 ng/mL.

b. Resultados de PK en plasma

[0303] Las concentraciones plasmáticas del Compuesto 12 fueron BLOQ (debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo) (<0,500 ng/mL) en todos los puntos temporales después de dosis únicas y múltiples de 0,1% y 0,3% de la dosis del Compuesto 12 y en 3 de 5 sujetos que recibieron la dosis de 1% de Compuesto 12. Se observaron niveles medibles del Compuesto 12 en el plasma de un sujeto al que se le administró el Compuesto 12 al 1% en el punto de tiempo más temprano (5 minutos después de la dosis) los días 14 y 27, pero fueron BLOQ para los puntos de tiempo posteriores. Los niveles medibles se observaron con mayor frecuencia después de la administración de la dosis del 5% durante todo el ensayo, aunque los niveles fueron bastante bajos (<3 ng/mL) y generalmente no fueron detectables después de la primera hora después de la administración (Figura 6). Los niveles de LFA-1 en los ensayos de células in vitro (unión celular y liberación de IL-2 de SEB) en los que se han observado valores de CI_{50} de 2 nM son aproximadamente 0,1 nM. Los niveles de LFA-1 en sangre son aproximadamente 10 nM. La CI_{50} para la inhibición del Compuesto 12 de la liberación de IL-2 estimulada por SEB en sangre humana completa es 69 nM. Se necesitan niveles de compuesto 12 mayores que los niveles de LFA-1 para inhibir la función leucocitaria. Por lo tanto, no se espera una inhibición significativa de los leucocitos sistémicos a partir de las gotas oftálmicas del Compuesto 12.

[0304] Parámetros de compuesto Plasma 12 media de la vida o de exposición no se pudieron evaluar con precisión después de la administración de la solución oftálmica Compuesto 12 en cualquier concentración de dosis en cualquier período de estudio debido a que las concentraciones plasmáticas de Compuesto 12 no eran detectables o rápidamente disminuyeron BLOQ dentro de 1 a 4 horas de dosificación.

C. Análisis de lágrimas PK

[0305] Se recogieron muestras de lágrimas del Compuesto 12 en ambos ojos antes de la dosis, a los 30 minutos después de la dosis y a las 1, 4, 8 y 24 horas después de la dosis los días 1, 5, 14, 18, y 27 del estudio de la Fase 1 con tiras de lágrimas Schirmer de papel. Se obtuvo una muestra de 48 horas después de la dosis después de los días 1, 14 y 27. Las concentraciones del Compuesto lagrimal 12 se determinaron usando un método de LC/MS/MS validado con un LLOQ de 0,500 ng/mL.

d. Resultados de PK de lágrima

[0306] Se observaron aumentos relacionados con la dosis en los valores de AUC (área bajo la curva de concentración-tiempo) y C_{max} (concentración plasmática máxima observada) en el día de dosificación y generalmente se mantuvieron en los puntos de tiempo evaluados durante el ensayo. La dosificación BID (dos veces al día) y TID (tres veces al día) produjo valores de C_{max} y AUC más altos en relación con una dosis única, pero no hubo diferencias

significativas en la exposición entre los programas de dosis BID y TID. Hubo evidencia clara de exposición al Compuesto 12 en el rango de dosis terapéutica anticipada y no hay evidencia obvia de acumulación con administración de dosis oculares múltiples.

5 **[0307]** La Figura 7 ilustra los niveles de C_{min} de lágrima del compuesto 12 al 1%. La Figura 8 ilustra que la dosis fue proporcional a los niveles de lágrima = Compuesto 12 $C_{máx}$. La Figura 9 ilustra que la dosis fue proporcional al Compuesto 12 QD AUC y C_{max} en lágrimas.

10 **[0308]** En general, la Solución Oftálmica del Compuesto 12 administrada por instilación ocular tópica a sujetos adultos sanos a concentraciones de dosis de hasta 5% TID parece ser segura y bien tolerada y apropiada para la investigación adicional en sujetos con inflamación ocular secundaria a la conjuntivitis alérgica o el ojo seco.

B. ESTUDIOS NO CLÍNICOS Programa no clínico habilitador de IND de Compuesto 12 (Estudios de farmacología y toxicología de seguridad)

1. Formulación de toxicología preclínica

[0309]

Tabla 14.

Solución salina tamponada con fosfato pH 7 290 mOsM/l
Sal de sodio de Compuesto 12 4 niveles de dosis (0,1% a 3%)
EDTA
Conservante de parabenos 0,02% de metil parabenos 0,04% de propil parabenos
Frasco de boquilla multidosis

2. Farmacología de seguridad

35 **[0310]** Un estudio *in vitro* para evaluar los efectos del Compuesto 12 en la corriente del canal hERG (un sustituto de I_{Kr} , la corriente de potasio cardíaco rectificador retardado de activación rápida) se realizó en células HEK293 de riñón transfectadas de forma estable. Las dosis únicas del Compuesto 12 fueron 20 μ M, 100 μ M, 200 μ M y 600 μ M. Los efectos del Compuesto 12 sobre la corriente fueron débiles (CI_{50} de 478 μ M), lo que indica un riesgo mínimo de inhibición del canal I_{Kr} dado la baja exposición sistémica observada después de la administración ocular tópica.

40 **[0311]** Se evaluaron los efectos cardiovasculares del Compuesto 12 en perros instrumentados con telemetría consciente (beagles) cuando se administraron mediante inyección intravenosa rápida. No se observaron efectos sobre la electrocardiografía o los parámetros hemodinámicos.

45 **[0312]** Los efectos del Compuesto 12 en el SNC cuando se administraron como una dosis única mediante inyección en bolo IV se evaluaron en ratas. Se observó miosis transitoria en animales que recibieron 10,0 mg/kg de 1 minuto a 6 horas después de la dosis en 2/6 animales en cada punto de tiempo. No se observó ningún efecto sobre ningún otro parámetro.

50 **[0313]** Se evaluó la función respiratoria (volumen corriente, frecuencia respiratoria y volumen minuto) en ratas después de una dosis única de bolo IV del Compuesto 12 usando cámaras de pletismografía de cabeza. No se observaron cambios adversos en la función respiratoria ni efectos adversos a ninguna dosis.

55 **[0314]** 3. Estudios de genotoxicidad: el Compuesto 12 no mostró ningún efecto en ensayos de aberración cromosómica Ames *in vitro* o en un estudio de micronúcleos de rata *in vivo*.

a. Ensayo de mutación inversa bacteriana *in vitro* de Ames

60 **[0315]** En un ensayo de Ames, el Compuesto 12 no causó un aumento en el número medio de revertantes por placa con ninguna de las cepas del probador, ya sea en presencia o ausencia de enzimas microsomales (S9). Por lo tanto, se consideró que el Compuesto 12 no era mutagénico.

b. Ensayo de aberración cromosómica *in vitro* en células CHO

65 **[0316]** Se evaluó la capacidad del Compuesto 12 para inducir aberraciones cromosómicas en células cultivadas de

ovario de hámster chino (CHO) con y sin una activación metabólica exógena después de 20 horas de co-incubación. El compuesto 12 se considera negativo para inducir aberraciones cromosómicas estructurales en células CHO con y sin activación metabólica, excepto a una dosis tóxica única sin activación metabólica (tratamiento de 3 horas; 3500 µg/ml). La relevancia biológica de esta respuesta es equívoca debido a la citotoxicidad.

c. Ensayo in vivo de micronúcleos de médula ósea de ratón

[0317] La capacidad de las administraciones IV repetidas del Compuesto 12 para inducir actividad clastogénica in vivo y/o interrupción del aparato mitótico, mediante la detección de micronúcleos en eritrocitos policromáticos (PCE), se evaluó en ratones BR CD-1® (ICR) evaluando su médula ósea. Según los resultados de este estudio, el Compuesto 12 se considera negativo en el ensayo de micronúcleos de médula ósea de ratón.

[0318] 4. Estudios de toxicidad aguda: para dosis única IV en ratas, el nivel de efectos adversos no observables (NOAEL) fue de 10 mg/kg IV. Para el aumento de la dosis única IV y la dosis repetida de 7 días con TK (toxicocinética) en perros, el NOAEL fue de 10 mg/kg IV. Para la tolerancia ocular a dosis única en conejos, el NOAEL fue de 3,5 mg/ojo/3 veces por día (10%).

[0319] 5. Estudios de toxicidad de dosis repetidas: en un estudio de toxicidad IV de 4 semanas en perros con recuperación de 2 semanas, el NOAEL fue de 10 mg/kg. En un estudio de toxicidad IV de 13 semanas en ratas con recuperación de 4 semanas, el NOAEL fue de 30 mg/kg. En un estudio de toxicidad ocular de 13 semanas en conejos con una recuperación de 4 semanas, el NOAEL fue de 1,05 mg/ojo/3x por día (3%). En un estudio de toxicidad ocular de 13 semanas en perros con una recuperación de 4 semanas, el NOAEL fue de 1,05 mg/ojo/3 veces por día (3%).

6. Estudios de ADME

[0320] La absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) del Compuesto 12 se caracterizó en estudios realizados en ratas, conejos y perros que utilizan dos vías de administración; administración ocular intravenosa y tópica, la vía clínica de administración. También se realizó un estudio de hepatocitos in vitro.

[0321] Los niveles de compuesto 12 se evaluaron en muestras de humor vítreo de plasma, lágrimas y muestras por espectrometría de masas tándem. Algunos estudios in vivo utilizaron [¹⁴C]-Compuesto 12 para determinar la PK y el grado de absorción, distribución y excreción de la radioactividad derivada de [¹⁴C]-Compuesto 12. Además, el perfil metabólico y la identificación de metabolitos de [¹⁴C]-Compuesto 12 se determinaron en plasma, orina y heces.

[0322] Se realizaron estudios de administración ADME intravenosa de dosis única ocular y dosis en ratas pigmentadas (cepa Long-Evans) y albinas (cepa Sprague Dawley) usando [¹⁴C]-Compuesto 12. Se realizaron evaluaciones cuantitativas de radiografía de cuerpo entero.

[0323] Las ratas machos y hembras recibieron una dosis única de 1 mg/ojo o 10 mg/kg IV [¹⁴C]-Compuesto 12. La ruta principal de excreción después de la administración ocular o IV fueron las heces, que representan aproximadamente el 60% (administración ocular) y 95% (administración IV) de la radioactividad administrada durante 0 a 168 horas después de la dosis. La excreción urinaria representó hasta el 2% de la radioactividad administrada. Los niveles tisulares más altos de [¹⁴C]-Compuesto 12 se midieron en los tejidos del tracto gastrointestinal con dosificación ocular o IV. Con la administración ocular, el compuesto [¹⁴C]-12 también se midió en los tejidos oculares y en los de excreción, lo que indica que la dosis administrada pasó del ojo a través de los cornetes nasales al esófago y finalmente se excretó a través del tracto gastrointestinal. Estos datos indican que la administración ocular, nasal u oral del Compuesto 12 dará como resultado la excreción final a través del tracto gastrointestinal. Una proporción significativa de la dosis del fármaco administrada como gotas oculares, distribuida localmente en la región periocular, y más interesante a través de cornetes nasales en el tracto gastrointestinal. Se observa que el fármaco se acumula primero en el epitelio del tracto gastrointestinal y pasa al hígado a través de la vena porta, donde se elimina del hígado y se devuelve al tracto gastrointestinal inferior. Se observa poca o ninguna droga en la distribución sistémica. Por lo tanto, para la administración del compuesto de Fórmula I a través de aerosol o gotas en la nariz, o por administración oral, puede proporcionar un suministro localizado directo específico similar al epitelio del tubo digestivo superior y un suministro localizado al tubo digestivo inferior a través del aclaramiento a través del hígado. En ambos casos, se puede administrar poca o ninguna administración sistémica del medicamento.

[0324] Después de una dosis ocular tópica de [¹⁴C]-Compuesto 12 a ratas macho Sprague Dawley (albino), la distribución de la radioactividad en los tejidos fue limitada en el primer momento (0,5 horas después de la dosis) y generalmente se asoció con el tracto gastrointestinal, los tejidos asociados con el metabolismo y el ojo. **La Figura 10** ilustra un autorradiografía de cuerpo entero para un animal Sprague Dawley macho 0,5 horas después de una única administración ocular tópica de [¹⁴C]-Compuesto 12 (1 mg /ojo). Las concentraciones más altas de radioactividad se determinaron en este momento en los contenidos esofágicos, los cornetes nasales y los contenidos del intestino delgado, con concentraciones de 399000, 352000 y 349000 ng equivalentes [¹⁴C]-Compuesto 12/g, respectivamente. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las mediciones en estos tejidos estaban por encima del límite superior de cuantificación y, por lo tanto, deben interpretarse con cierta precaución. También se determinaron altos niveles de radioactividad en el esófago y el contenido del estómago. Se detectó radioactividad en el ojo en este momento, con una

concentración de 18100 ng equivalentes [^{14}C]-Compuesto 12/g. Los bajos niveles de radiactividad también se asociaron con el hígado (272 ng equivalentes [^{14}C]-Compuesto 12/g), riñón (151 ng equivalentes [^{14}C]-Compuesto 12/g) y el tracto uveal (9330 ng equivalentes [^{14}C]-Compuesto 12/g).

[0325] Las concentraciones de radioactividad en el ojo y la lente del ojo habían disminuido considerablemente 2 horas después de la dosis; con el nivel en la lente del ojo BLQ. Las concentraciones de radiactividad también habían disminuido en el esófago y el contenido esofágico en aproximadamente 50 y 100 veces a las 2 horas después de la dosis. La **Figura 11** ilustra una autorradiografía de cuerpo completo para un animal Sprague Dawley macho 2 horas después de una administración ocular tópica única de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo). A las 8 horas, el nivel de radioactividad posdosis había disminuido en todos los tejidos; sin embargo, las altas concentraciones se asociaron con el contenido del intestino grueso (133000 ng equivalentes [^{14}C]-Compuesto 12/g) y el contenido de ciego (57600 ng equivalentes [^{14}C]-Compuesto 12/g), lo que indica el paso de la radiactividad a través del tracto gastrointestinal. La **Figura 12** ilustra una autorradiografía de cuerpo entero para un animal Sprague Dawley macho 8 horas después de una única administración ocular tópica de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo).

[0326] A las 12 horas después de la dosis, las concentraciones de radioactividad habían disminuido aún más, estando asociadas las concentraciones máximas con el ciego y el contenido del intestino grueso. La concentración determinada en el tracto uveal aumentó en este momento a 610 ng equivalentes [^{14}C]-Compuesto 12/g. La **Figura 13** ilustra una autorradiografía de cuerpo entero para un animal Sprague Dawley macho 12 horas después de una administración ocular tópica única de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo).

[0327] Las concentraciones de radioactividad a las 24 horas después de la dosis fueron máximas en los contenidos ciego (5870 equivalentes ng [^{14}C]-Compuesto 12/g) y los grandes contenidos intestinales (18000 equivalentes ng [^{14}C]-Compuesto 12/g); niveles bajos también estuvieron presentes en el contenido del intestino delgado y el estómago. La **Figura 14** ilustra una autorradiografía de cuerpo completo para un animal Sprague Dawley macho 24 horas después de una administración ocular tópica única de [^{14}C]-Compuesto 12 (1 mg/ojo). Para todos los demás tejidos, con la excepción de la piel no pigmentada y la radiactividad hepática no fue detectable.

[0328] Se midieron niveles bajos de [^{14}C]-Compuesto 12 en el humor vítreo en todos los puntos de tiempo después de la dosificación ocular y hasta 2 horas después de una dosis IV (ver esquema en la **Figura 15** y la **Tabla 15** para la dosificación ocular en ratas).

Tabla 15 Concentración del Compuesto 12, ng Equivalentes [^{14}C]-Compuesto de tejido 12/g.

Región física	0,5 horas después de la administración	4,0 horas después de la administración
Humor acuoso	1770	116
Conjuntiva (bulbar)	31500	4480
Conjuntiva (palpebral)	26300	21830
Córnea	17150	1346
Cuerpo iris-iliar	17550	500
Lente	38,8	9,69
Nervio óptico	796	0 0
Retina y coroides (con RPE)	510	46,7
Esclerótico	2750	387
Humor vítreo	1330	183

[0329] La distribución tisular de [^{14}C]-Compuesto 12 en ratas pigmentadas y albinos era comparable e indicó que el compuesto 12 no se une preferentemente a la melanina. No se observaron diferencias obvias en los resultados de ratas macho y hembra. Además, no se observó una distribución preferencial de la radioactividad derivada del Compuesto [^{14}C] en los glóbulos rojos y no se aislaron metabolitos de las muestras de plasma agrupado, orina y homogenados fecales recogidos hasta 168 horas después de una dosis ocular tópica o IV administración de [^{14}C]-Compuesto 12.

[0330] Se realizaron estudios similares de dosis única utilizando [^{14}C]-Compuesto 12 utilizando las mismas vías de administración en perros machos y hembras (3 mg/ojo o 3 mg/perro) y mostraron patrones comparables de excreción, distribución y metabolismo como ratas. Después de una dosis ocular, se detectaron los niveles promedio más altos de [^{14}C]-Compuesto 12 en los tejidos oculares anteriores (ver **Figura 16**). Se detectaron niveles más bajos en los tejidos oculares posteriores, lo que indica que se había producido la absorción en el ojo. El perfil metabólico en muestras agrupadas de plasma, orina y muestras de homogenato fecal fue comparable al observado en ratas, sin metabolitos detectados hasta 168 horas después de la dosis. No se observaron diferencias en los resultados de perros machos y hembras.

[0331] Los niveles del compuesto 12 en conjuntiva/córnea son mayores de 1 micromolar/100 nanomolar durante 16

horas (perro/rata).

a. Compuesto 12 Farmacocinética después de la administración IV única y repetida

[0332] En las Figuras 17 y 18, se muestran concentraciones plasmáticas del Compuesto 12 a lo largo del tiempo después de una dosis IV única en ratas y perros, respectivamente. Las concentraciones plasmáticas del Compuesto 12 disminuyeron de una manera exponencial esperada después de una dosis única de bolo IV en ambas especies.

[0333] Los parámetros de PK en plasma se determinaron usando métodos no compartimentales estándar después de una única administración IV del Compuesto 12 a ratas a dosis que varían de 0,2 a 30,0 mg/kg o a perros después de dosis únicas de hasta 30 mg/kg y 7 dosis diarias de 3 o 10 mg/kg se muestran en la Tabla 16 (ratas). Los resultados de PK de ambas especies muestran un aclaramiento muy alto del Compuesto 12 (el flujo sanguíneo hepático es ~ 3,3 L/h/kg y 1,9L/h/kg en ratas y perros, respectivamente; (Davies, 1993, Pharm Res). Datos de PK de rata indicaron un volumen de distribución alto y una vida media moderada después de una dosis única de IV, mientras que se observó un volumen de distribución bajo y un fármaco de vida media más corto después de la administración IV a los perros. No hubo acumulación obvia de Compuesto 12 en plasma después de la administración diaria de Compuesto 12 durante 7 días ya que los valores de plasma C_{max} y AUC_{0-n} del Compuesto 12 medidos el Día de Estudio 1 se acercaban a los obtenidos el Día de Estudio 7.

Dosis	CL L/h/kg	Vss L/kg	T _{1/2} h	MRT h	C _{max} ng/ml ¹	AUC _{0-n} h x ng/mL ²
10,0 mg/kg	10,4	9,56	3,76	0,920	1056	728
30,0 mg/kg ⁴	-	-	-	-	5117,3	2345,5

¹ Concentración plasmática máxima observada del Compuesto 12 estimada a partir del perfil de concentración media frente al perfil de tiempo.
² Compuesto plasmático 12 AUC_{0-n} durante el intervalo de dosis estimado a partir del perfil de concentración media frente al perfil de tiempo.
³ Estimación de la concentración plasmática media del Compuesto 12 frente a los perfiles de tiempo.
⁴ Del estudio de farmacología de seguridad de ratas.

[0334] En estudios de dosis repetidas a más largo plazo, perros y ratas recibieron dosis diarias IV en bolo de 3, 10 o 30 mg/kg/día durante 4 y 13 semanas, respectivamente. Como se observó en el estudio con perros de 7 días, las concentraciones plasmáticas del Compuesto 12 disminuyeron de manera esperada y exponencial y no hubo evidencia de acumulación del Compuesto 12 en el plasma: aclaramiento plasmático, volumen de distribución y vida media e del Compuesto 12 en perros dependía de la dosis en el rango de dosis de 3 mg/kg a 30 mg/kg. En ratas, los datos de exposición al Compuesto 12 en plasma sugirieron la disposición no lineal del Compuesto 12 después de dosis intravenosas diarias que varían de 10 a 30 mg/kg y una acumulación inesperada en la Semana 13 (Tabla 17).

Tabla 17: Parámetros de exposición del compuesto de plasma 12 en ratas después de dosis diarias de bolo IV durante 13 semanas³

	Dosis = 3 mg/kg		Dosis = 10 mg/kg		Dosis = 30 mg/kg	
	C _{max} ng/ml ¹	AUC _{0-n} h x ng/mL ²	C _{max} ng/ml ¹	AUC _{0-n} h x ng/mL ²	C _{max} ng/ml ¹	AUC _{0-n} h x ng/mL ²
Día 1	305,2	148,3	1045,3	535,6	5117,3	2345,5
Semana 13	377,5	241,4	1691,5	907,1	16932,8	7471,5

¹ Concentración máxima observada de compuesto plasmático 12 durante el intervalo de dosis.
² Compuesto plasmático 12 AUC_{0-n} durante el intervalo de dosis.
³ Estimación de la concentración plasmática media del Compuesto 12 frente al perfil de tiempo, $n = 6$ ratas (3 machos y 3 hembras) por punto de tiempo.

b. Farmacocinética de Compuesto 12 después de la administración ocular única y repetida

[0335] Después de una instilación ocular tópica única de una concentración de dosis de 0,1, 1,0 o 3,0% de la Solución oftálmica del Compuesto 12 (0,105, 0,35 y 1,05 mg/ojo, respectivamente), concentraciones de lágrima media de Compuesto 12 aumentaron de una manera relacionada con la dosis, logrando valores máximos dentro de los 30 minutos de la administración y volviendo a la línea base a las 4 horas. La lágrima C_{max} y el AUC_{0-n} del Compuesto 12 generalmente aumentaron con el aumento de la dosis. La Figura 19 ilustra que la dosis del Compuesto 12 es proporcional a PK en lágrimas (AUC) para perros. Por ejemplo, los valores medios de C_{max} de lágrima fueron 34,014 ng/mL, 21460 ng/mL y 313,906 ng/mL en los ojos derechos de conejos a los que se les administró 0,105, 0,35 y 1,05 mg/ojo, respectivamente. Las AUC de lágrima promedio fueron 18864 h x ng/mL, 18931 h x ng/mL y 182978 h x ng/mL en los ojos derechos de los mismos grupos de dosis, respectivamente.

[0336] Las concentraciones del Compuesto plasmático 12 aumentaron después de la instilación ocular tópica a medida que el fármaco se movía desde el sitio de aplicación ocular hacia la circulación plasmática. Se detectaron cantidades relacionadas con la dosis del Compuesto 12 en el plasma de perros y conejos 30 minutos después de la administración ocular tópica. Las concentraciones plasmáticas del Compuesto 12 disminuyeron rápidamente de los valores máximos medidos a aproximadamente 0,25 horas después de la dosis a los niveles basales en aproximadamente 4 horas, probablemente debido al alto aclaramiento plasmático del Compuesto 12 como se observa en los estudios de administración IV. Los valores plasmáticos de C_{max} (promedio \pm DE) fueron $11,7 \pm 8,80$ ng/ml, $13,1 \pm 2,12$ ng/ml, y $38,9 \pm 19,7$ ng/ml y los valores de AUC_{0-n} (promedio \pm DE) fueron $5,19 \pm 5,39$ h x ng/mL, $7,35 \pm 1,52$ h x ng/mL, y $22,9 \pm 10,1$ h x ng/mL en los grupos 0,105, 0,35 y 1,05 mg/ojo/dosis, respectivamente.

[0337] En estudios de dosis repetidas realizados en conejos y perros, la solución oftálmica del compuesto 12 se administró TID por instilación ocular bilateral a las mismas dosis que para los estudios de dosis única durante 13 semanas. Un estudio piloto en perros a los que se les administró 3,5 mg/ojo (dosis del 10%) durante 3 días. La C_{max} y el AUC_{0-n} del Compuesto 12 en las muestras de lágrimas aumentaron de forma esperada al aumentar la dosis en conejos y perros. Los datos de C_{max} y AUC_{0-n} indican que el Compuesto 12 se acumuló en lágrimas de perros en la Semana 9 durante la instilación de TID, pero a partir de entonces no se observó acumulación continua. Se observó un patrón similar en el estudio con conejos. En las **Figuras 20 y 21**, respectivamente, se muestran los perfiles representativos de concentración de lágrimas a lo largo del tiempo medidos después de 13 semanas de dosificación ocular de TID en conejos y perros (ojo izquierdo, TID, ~ 4 horas de diferencia). Los análisis de TK (toxicocinética) indican una exposición ocular adecuada del Compuesto 12 con niveles de lágrimas superiores a 1 μ M (600 ng/ml) durante todo el día. **La Figura 22** ilustra las concentraciones medias de lágrimas del Compuesto 12 en los ojos derecho e izquierdo de conejos después de la instilación tópica de una dosis única.

[0338] El compuesto 12 no se detectó en el fluido vítreo en estudios de conejo y perro de 13 semanas en muestras obtenidas en el sacrificio (sacrificios de fase terminal y de recuperación). Se observaron niveles variables del Compuesto 12 en el fluido vítreo de perros a los que se les administró TID durante tres días con 3,5 mg/ojo (10%) y oscilaron entre BLOQ y 18 ng/ml.

[0339] Los estudios no clínicos mostraron que aproximadamente el 6,9 al 32% de la dosis ocular del Compuesto 12 se absorbió del sitio de instilación tópica ocular en la circulación sistémica, pero esta estimación de disponibilidad sistémica se ha basado en datos disponibles limitados que incluyen una dosis ocular que es 1/100^o de la dosis intravenosa. Se observó una baja exposición plasmática sistémica al fármaco en animales después de la instilación ocular. Es importante destacar que el aclaramiento plasmático del Compuesto 12 es alto en estas especies, lo que indica que el Compuesto 12 absorbido se elimina eficientemente de la circulación sistémica, ayudando así a minimizar la exposición sistémica.

[0340] Los perfiles PK de todas las especies no clínicas soportan un régimen de instilación ocular tópica de dosis clínica de hasta tres veces por día durante al menos 13 semanas.

C. Tolerancia ocular piloto del Compuesto 12 administrado tópicamente en perros-PK

[0341] Se realizó una tolerancia ocular piloto del Compuesto 12 administrado tópicamente en perros-PK. Los animales fueron dosificados con 35 μ l de compuesto 12 TID (0, 4, 8 horas). La solución al 1% se administró en los días 1-14; la solución al 3% se administró los días 17-21 y la solución al 10% se administró los días 24-27. Niveles valle de Compuesto 12 en lágrimas/tejido periocular son mayores que 1000 veces el CI_{50} para la liberación de fijación de células T/IL-2. El compuesto 12 es seguro y bien tolerado con una fuerza de hasta 10% a 3 dosis/día. Se detectaron aumentos dependientes de la dosis en la concentración del Compuesto 12 en lágrimas (30 min - 16 horas) y plasma (30 min) después de la instilación ocular. Las concentraciones vítreas del Compuesto 12 fueron mayores de 1000 veces más bajas.

C. DÉRMICO

1. Estudios dérmicos preclínicos de compuesto 12

[0342] El compuesto 12 muestra 2% (p/p) solubilidad en solución de agua/glicol/transcutol y 10% (p/p) Solubilidad en solución de etanol/glicol/transcutol. Los estudios de solubilidad sugieren una formulación de emulsión. Los prototipos se han desarrollado y probado en piel humana microtomizada de cirugía electiva al 1% (p/p). Las formas incluyen geles, pomadas o lociones. La estabilidad y compatibilidad se ha demostrado en todas las formulaciones. Los estudios de transporte de piel realizados con análisis LC/MS/MS indican altos niveles de Compuesto 12 en epidermis y dermis y bajos niveles en el receptor. Puede haber más de 10 micromolar Compuesto 12 en la dermis, con una penetración de dosis del 2 al 4%, según se determina usando [¹⁴C]-Compuesto 12. Los estudios piloto en ratas y minierdos demuestran una baja exposición sistémica que indica la penetración del fármaco en los niveles vascularizados de piel (es decir, dermis).

2. Programa dérmico no clínico

Estudio de sensibilización dérmica en cobayas: prueba de Buehler

[0343] Una prueba de Buehler con adultos jóvenes y sanos (4 a 6 semanas), se utilizan cobayas albinas criadas al azar (cepa Crl: (Ha) BR) para determinar el potencial del Compuesto 12 para inducir hipersensibilidad. La dieta consiste en una dieta certificada para conejillos de indias (n° 5026, PMI Nutrition International LLC) ad libitum. El agua se administra ad libitum. La temperatura ambiente es de 18 a 26°C, la humedad relativa es de 30 a 70% y se utiliza un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad. Los animales se aclimatan durante al menos 5 días.

[0344] Diseño experimental: 34 animales aclimatados se colocan en un grupo de detección de irritación de 4 cobayas, un grupo de prueba de 10 cobayas (Grupo 1), un grupo de control ingenuo de 5 cobayas (Grupo 2), 10 guinea de control positivo cerdos (Grupo 3), y 5 cobayas de control ingenuo positivo (Grupo 4).

[0345] Pantalla de irritación: el pelo de la parte posterior de 4 animales se elimina mediante recorte y se seleccionan cuatro sitios de aplicación por animal. Cada sitio se trata con 0,4 ml de Compuesto 12 al 0,1%, 1% o 10% p/v y dosis de 0,4 g del Compuesto 12. Se seleccionan las concentraciones apropiadas del Compuesto 12 para la exposición por inducción (la más alta puede causar de leve a moderada irritación de la piel) y exposición de exposición (dosis máxima no irritante).

[0346] Fase definitiva: antes de la prueba, se elimina el vello con maquinilla eléctrica de animales en el Grupo 1. Los sistemas de parches oclusivos (Hill Top Chamber®, 25 mm de diámetros) se saturan con 0,4 ml de solución de vehículo con una concentración de compuesto. de Fórmula I como se determina en la pantalla de irritación. Los parches oclusivos se aplican a los flancos de cobayas del Grupo 1 durante 6 horas. Las restricciones se utilizan para mantener una presión uniforme sobre los parches. El procedimiento se repite los días 6-8 y 13-15 después de la exposición inicial. El material de control positivo, HCA (alfa-hexilcinamaldehído), 2,5% p/v en etanol, se aplica de manera similar a los conejillos de Indias del Grupo 3. Los animales de control ingenuos (Grupos 2 y 4) no son tratados durante la fase de inducción.

[0347] Dos semanas después del último parche de inducción, los animales son desafiados con parches saturados con una concentración no irritante del Compuesto 12 aplicada al cuadrante dorsal anterior derecho, y a lo largo del cuadrante dorsal anterior izquierdo con una aplicación de desafío de agua. Los animales del grupo 2 (control ingenuo) se afeitan con una maquinilla eléctrica y se tratan en el cuadrante dorsal anterior derecho con el Compuesto 12 y a lo largo del cuadrante dorsal anterior izquierdo con vehículo. El HCA se administra a 5,0% y 7,0% p/v en acetona en dos sitios de desafío respectivos a lo largo del lado derecho de cada animal en el Grupo 3 de la misma manera que la fase de inducción (volumen de dosis de 0,4 mL). Los animales del Grupo 4 se tratan con dos aplicaciones de prueba del material de control positivo de la misma manera que el Grupo 3.

[0348] Después de 6 h, se retiran los parches y se depila el área (aplicando Nair®). Los sitios de prueba se evalúan visualmente 24 y 48 horas después de la eliminación del parche. Los animales que desarrollan respuestas eritematosas se consideran sensibilizados (si los animales de control irritantes no responden). Se calcula el número de reacciones positivas y la intensidad promedio de las respuestas. Las reacciones a las dosis de desafío determinan la sensibilización. Los grados de 1 o más en los animales de prueba a un material respectivo indican evidencia de sensibilización, siempre que se vean grados de menos de uno en los animales de control ingenuos para este mismo material. Si se observan grados de uno o más en los animales de control ingenuos, entonces las reacciones de los animales de prueba que exceden las reacciones de control ingenuas más severas se consideran reacciones de sensibilización.

3. Estudio dérmico de la rata piloto del compuesto 12

[0349] La seguridad y la tolerabilidad de las formulaciones dérmicas prototípicas (1% de loción, pomada y gel) se evaluaron en ratas que recibieron TID durante siete días consecutivos, aproximadamente 6 cm² con 10 mg/cm². Se administró 1% de DMSO como un control de alta biodisponibilidad. La Figura 23 ilustra que el Compuesto 12 es detectable en suero.

4. Estudio dérmico en minicerdos piloto del Compuesto 12

[0350] La tolerabilidad y la exposición sistémica de varias formulaciones del Compuesto 12 (DMSO, gel, pomada, loción al 1%) se evaluó al dar estas formulaciones a los minicerdos como lo hace la dérmica múltiple TID durante 7 días, aproximadamente 50 cm² con 10 mg/cm². Se usó una formulación de cerdo/dosis. El análisis de PK en la vida se completó. No se informó toxicidad con ninguna formulación. La PK de plasma reveló niveles bajos de Compuesto 12 en todos los grupos pero por debajo del LLOQ de 0,5 ng/ml.

[0351] Los estudios piloto de ratas y minicerdos indican que la PK era comparable con el gel y la pomada y el Compuesto 12 es seguro para la evaluación en humanos como una formulación de gel o pomada.

[0352] Se han desarrollado formulaciones dérmicas tópicas al 1% prototípicas (loción, gel y pomada). Hay una buena administración del Compuesto 12 a la epidermis y la dermis en las células humanas de piel de Franz. Los estudios

piloto de toxicología de lociones, geles y pomadas revelan que la PK demuestra una buena biodisponibilidad.

Ejemplo 12: Fase 2 Conjuntivitis alérgica de ensayo (Ejemplo de referencia)

[0353] Sujetos con antecedentes positivos de alergias oculares y una reacción positiva de prueba cutánea al pelo de gato, caspa de gato, caspa de perro, los pastos, la ambrosía, los árboles, los ácaros del polvo y/o las cucarachas en los últimos 24 meses (como lo demuestran las pruebas cutáneas positivas) serán desafiados con alérgenos administrados a la conjuntiva para inducir picazón ocular y enrojecimiento conjuntival. Los sujetos serán tratados con formulaciones conservadas y no conservadas de gotas oftálmicas del Compuesto 12. El medicamento no conservado se suministrará como una dosis unitaria estéril en un recipiente de un solo uso, llenado y sellado que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS. El medicamento conservado se suministrará como un recipiente estéril de usos múltiples que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS que contiene conservante. Cada grupo de sujetos de prueba será tratado QD, BID o TID con diferentes dosis de Compuesto 12 o placebo en formulaciones conservadas o no conservadas. El fármaco será autoadministrado por cada sujeto como una sola gota en cada ojo una vez, dos o tres veces al día, según las indicaciones. Las dosis administradas incluirán soluciones de placebo (vehículo PBS) 0,1%, 0,3%, 1% y 5% del Compuesto 12.

[0354] En el momento de la inscripción, se evaluará la sensibilidad al alérgeno de los sujetos mediante una prueba de provocación conjuntival (también denominada "prueba de provocación de alérgeno conjuntival"). Los pacientes que respondan con picazón y enrojecimiento de al menos 2,0 [escala de 0-4 puntos con incrementos de 0,5 puntos] recibirán el medicamento y deberán registrar la administración de cada dosis de medicamento en los diarios del paciente. La respuesta del paciente al alérgeno (picazón y enrojecimiento) se evaluará en las visitas de seguimiento con desafíos posteriores 6,7 días y/o 13,14 días después de su inscripción. Los desafíos en estas visitas ocurrirán en tiempos variables (aproximadamente 15 minutos, 8 horas o 24 horas) después de su última dosis del Compuesto 12. Por el contrario, los pacientes serán desafiados con alérgenos y luego tratados con el Compuesto 12 en tiempos variables (5 minutos, 10 minutos, 20 minutos, 40 minutos o 1 hora) después del desafío. Los exámenes de pacientes incluirán evaluaciones de seguridad, agudeza visual, examen con lámpara de hendidura, fundoscopia dilatada. Una diferencia media de al menos 1,0 puntos [escala de 0-4 puntos con incrementos de 0,5 puntos] en la picazón ocular y la hiperemia que compara el Compuesto 12 y el vehículo se considera clínicamente significativa cuando se evalúa en los primeros 10 minutos después de la exposición al alérgeno.

[0355] Las medidas objetivas de eficacia (informadas por el médico) incluirán: 1) hiperemia conjuntival, 2) hiperemia episcleral, 3) hiperemia ciliar y 4) quemosis.

[0356] Las medidas subjetivas de eficacia (informadas por el paciente) incluirán: 1) picazón ocular, 2) blefaritis, 3) rinorrea, 4) congestión nasal y 5) prurito nasal.

[0357] Para las alergias estacionales, los sujetos serán tratados diariamente a dosis QD, BID o TID durante hasta 8 semanas consecutivas durante la temporada alta de alergia para el polen común de hierba y árboles (también denominado "estudios ambientales"). Se evaluarán medidas similares de medidas de eficacia objetivas y subjetivas.

[0358] Para estudios de provocación ambiental o conjuntival, se realizará un ensayo de seguridad de al menos 6 meses en pacientes adultos y pediátricos normales.

[0359] Los resultados de este ensayo respaldarán las afirmaciones regulatorias para el tratamiento o prevención de signos y síntomas de conjuntivitis alérgica (tanto estacional como perenne); tratamiento ahorrador de esteroides para la conjuntivitis alérgica: sin eventos de seguridad de esteroides (glaucoma, cataratas); el compuesto 12 puede usarse junto con estabilizadores de mastocitos y antihistamínicos para mejorar o prolongar la eficacia; tratamiento de signos y síntomas oculares y nasales de alergia.

Ejemplo 13: Ensayo de fase 2 para el ojo seco (ejemplo de referencia)

[0360] Los sujetos con ojo seco moderado a severo serán tratados durante 12 semanas (ensayos de eficacia) y hasta 1 año (ensayos de seguridad) con formulaciones conservadas y no conservadas de gotas oftálmicas de Compuesto 12. El medicamento no conservado se suministrará como una dosis unitaria estéril en un recipiente de un solo uso, llenado y sellado que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS. El medicamento conservado se suministrará como un recipiente estéril de usos múltiples que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS que contiene conservante. Cada grupo de sujetos de prueba será tratado QD o BID con diferentes dosis de Compuesto 12 o placebo en formulaciones conservadas o no conservadas. El fármaco será autoadministrado por cada sujeto como una sola gota en cada ojo una o dos veces al día. Las dosis administradas incluirán soluciones de placebo (vehículo PBS) 0,1%, 0,3%, 1% y 5% del Compuesto 12.

[0361] En el momento de la inscripción, los sujetos serán evaluados para detectar signos y síntomas de ojo seco. Los pacientes recibirán un medicamento y se les pedirá que registren la administración de cada dosis de medicamento en diarios del paciente. Los signos y síntomas del paciente del ojo seco se evaluarán en las visitas de seguimiento al final de la semana 2, semana 4, semana 6, semana 8 y/o semana 12. Los exámenes del paciente incluirán evaluaciones

de seguridad, agudeza visual, examen de lámpara de hendidura, fundoscopia dilatada. Los puntos finales se medirán en la clínica en condiciones normales de oficina (denominadas condiciones "ambientales") y se medirán durante y/o inmediatamente después de una exposición prolongada a un entorno controlado (es decir, humedad controlada, temperatura, flujo de aire y tareas visuales; también denominado "ambiente ambiental controlado").

[0362] Medidas clínicas objetivas de la eficacia incluyen: 1) la tinción corneal con fluoresceína, 2) tinción conjuntival con verde lisamina, 3) tiempo de ruptura de película lagrimal con fluoresceína, 4) pruebas Schirmer lacrimógenas con y sin anestesia, 5) citología de impresión conjuntival (ICAM-1), 6) osmolaridad lagrimal, 7) frecuencia de parpadeo, 8) hiperemia ocular, 9) sensibilidad corneal del capó Cochet, 10) fluorofotometría lagrimal, y 11) índice de protección ocular.

[0363] Las medidas clínicas subjetivas de eficacia incluirán: 1) Índice de enfermedad de la superficie ocular, 2) Autoevaluación global del paciente (molestia ocular autocalificada) 3) Escala analógica visual, y 4) Comodidad de caída (evaluación de tolerabilidad).

[0364] Los resultados de este ensayo respaldarán los reclamos regulatorios para el tratamiento o prevención de signos y síntomas de queratoconjuntivitis seca (ojo seco) con o sin el uso concomitante de gotas lubricantes para los ojos.

Ejemplo 14: Retinopatía diabética (DR) y edema macular diabético (DME) (Ejemplo de referencia)

[0365] DR y DME son enfermedades mediadas por leucocitos. La adhesión de leucocitos a las células epiteliales capilares parece crítica en el mecanismo de isquemia-reperusión.

Estudio en humanos

[0366] Los sujetos con diabetes tipo I o tipo II serán tratados con el Compuesto 12 durante hasta 3 años con formulaciones tanto preservadas como no conservadas de gotas oftálmicas del Compuesto 12. El medicamento no conservado se suministrará como una dosis unitaria estéril en un recipiente de un solo uso, llenado y sellado que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS. El medicamento conservado se suministrará como un recipiente estéril de usos múltiples que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS que contiene conservante. Cada grupo de sujetos de prueba será tratado QD, BID o TID con diferentes dosis de gotas oftálmicas del Compuesto 12 o placebo en formulaciones conservadas o no conservadas. El fármaco será autoadministrado por cada sujeto como una sola gota en cada ojo una vez, dos o tres veces al día. Las dosis administradas incluirán soluciones de placebo (vehículo PBS) 0,1%, 0,3%, 1% y 5% del Compuesto 12. Para mejorar el cumplimiento del paciente, el Compuesto 12 puede administrarse como una formulación de liberación lenta que administra el medicamento a la retina durante el curso del estudio.

[0367] En el momento de la inscripción, los pacientes deben tener un diagnóstico de diabetes tipo I o tipo II y retinopatía diabética no proliferativa. Los pacientes también pueden tener edema macular diabético concomitante. Los pacientes serán suministrados con la droga y requieren para registrar la administración de cada dosis de drogas en diarios de los pacientes. Los pacientes serán evaluados cada 2 meses durante la duración del estudio. Cada examen del paciente incluirá evaluaciones de seguridad, agudeza visual, examen con lámpara de hendidura, fundoscopia dilatada.

[0368] Las medidas objetivas de eficacia incluirán: 1) Mejor agudeza visual corregida usando el método de tratamiento temprano de la retinopatía diabética (ETDRS) a 4 metros, 2) Reducción del espesor de la retina medida por tomografía de coherencia óptica (OCT), y 3) Progresión de retinopatía diabética.

[0369] Las medidas clínicas subjetivas de eficacia incluirán: 1) mejora NEI-VFQ 25 y otros instrumentos de resultado validados informados por el paciente.

[0370] Los resultados de este ensayo respaldarán las demandas regulatorias para la prevención de la progresión de la retinopatía diabética a las 4, 8 semanas, 1, 2 y 3 años; mantenimiento o mejora en la agudeza visual; prevención, tratamiento y/o reducción del edema macular; se puede usar en combinación con láser focal y de rejilla, esteroides intravítreos, terapia fotodinámica y/o terapias anti-VEGF.

[0371] Estudio piloto del modelo STZ de rata de edema macular diabético (DME) Los anticuerpos anti-ICAM han demostrado eficacia en un modelo STZ de rata de DME. Los estudios de distribución de radiomarcadores del compuesto 12 en ratas demuestran la entrega a la retina. STZ (streptozocin) se usa para generar un modelo animal para la diabetes tipo 1. Un estudio de ratas STZ definitivo con el Compuesto 12 incluirá 5 grupos con 18 animales. Grupo nº 1 son ratas SD normales que no recibirán tratamiento. Grupo nº 2 son ratas STZ que reciben gotas de vehículo BID/2 meses. Grupo nº 3 son ratas STZ que reciben 1% de compuesto 12 gotas BID/2 meses. Grupo nº 4 son ratas STZ que recibirán 5% de compuesto 12 gotas BID/2 meses. Grupo nº 5 son ratas STZ que recibirán control positivo de celecoxib. Los puntos finales para el estudio incluirán: fuga retiniana de FITC-dextrano, relación de proteínas vítreo-plasma, ensayo de mieloperoxidasa y leucostasis retiniana.

[0372] Leucostasis se estudia como se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 20080019977 usando

naranja de acridina de leucocitos Fluorografía (AOLF) y angiografía con fluoresceína. La dinámica de los leucocitos en la retina se estudia con AOLF (Miyamoto, K., et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 39: 2190-2194 (1998); Nishiwaki, H., et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 37: 1341-1347 (1996); Miyamoto, K., y col., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 37: 2708-2715 (1996)). La inyección intravenosa de naranja de acridina causa leucocitos y las células endoteliales fluorescentes a través de la unión no covalente de la molécula al ácido nucleico bicatenario. Cuando se utiliza un oftalmoscopio láser de barrido, los leucocitos retinianos dentro de los vasos sanguíneos se pueden visualizar in vivo. Veinte minutos después de la inyección de naranja de acridina, se pueden observar leucocitos estáticos en el lecho capilar. Inmediatamente después de observar y registrar los leucocitos estáticos, se realiza una angiografía con fluoresceína para estudiar la relación entre los leucocitos estáticos y la vasculatura retiniana.

[0373] Veinticuatro horas antes de que se realice la AOLF y la angiografía con fluoresceína, todas las ratas tenían un catéter con bloqueo de heparina implantado quirúrgicamente en la vena yugular derecha para la administración de naranja de acridina o tinte de fluoresceína sódica. El catéter se externaliza por vía subcutánea a la parte posterior del cuello. Las ratas se anestesian para este procedimiento con clorhidrato de xilazina (4 mg/kg) y clorhidrato de ketamina (25 mg/kg). Inmediatamente antes de AOLF, cada rata se anestesia nuevamente, y la pupila del ojo izquierdo se dilata con tropicamida al 1% para observar la dinámica de los leucocitos. Se obtiene una imagen enfocada del fondo peripapilar del ojo izquierdo con un oftalmoscopio láser de barrido (SLO). La naranja de acridina se disuelve en solución salina estéril (1,0 mg/ml) y se inyectan 3 mg/kg a través del catéter de la vena yugular a una velocidad de 1 ml/min. El fondo de ojo se observa con el SLO utilizando el láser de argón azul como fuente de iluminación y el filtro de angiografía de fluoresceína estándar en el campo de 40° durante 1 minuto. Veinte minutos después, se observa nuevamente el fondo para evaluar la leucostasis en la retina. Inmediatamente después de evaluar la leucostasis retiniana, se inyectan 20 µl de tinte de fluoresceína sódica al 1% en el catéter de la vena yugular. Las imágenes se graban en una cinta de video a una velocidad de 30 cuadros/seg. Las grabaciones de video se analizan en una computadora equipada con un digitalizador de video que digitaliza la imagen de video en tiempo real (30 cuadros/seg) a 640 x 480 píxeles con una resolución de intensidad de 256 pasos. Para evaluar la leucostasis retiniana, se determina un área de observación alrededor del disco óptico que mide diez diámetros de disco dibujando un polígono rodeado por los vasos retinianos principales adyacentes. El área se mide en píxeles y la densidad de los leucocitos atrapados se calcula dividiendo el número de leucocitos atrapados, que se reconocen como puntos fluorescentes, por el área de la región de observación. Las densidades de leucocitos se calculan generalmente en ocho áreas de observación peripapilar y se obtiene una densidad promedio promediando los ocho valores de densidad.

[0374] Se espera que el compuesto 12 reduzca la leucostasis y la fuga de barrera de la retina sanguínea en ratas tratadas con STZ.

Ejemplo 15: Degeneración macular relacionada con la edad (AMD) (Ejemplo de referencia)

[0375] Los sujetos con AMD húmeda o seca se tratarán con el Compuesto 12 durante hasta 3 años con formulaciones preservadas y no conservadas de gotas oftálmicas del Compuesto 12. El medicamento no conservado se suministrará como una dosis unitaria estéril en un recipiente de un solo uso, llenado y sellado que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS. El medicamento conservado se suministrará como un recipiente estéril de usos múltiples que contiene el Compuesto 12 formulado en PBS que contiene conservante. Cada grupo de sujetos de prueba será tratado QD, BID o TID con diferentes dosis de gotas oftálmicas del Compuesto 12 o placebo en formulaciones conservadas o no conservadas. Cada sujeto administrará el fármaco como una sola gota en cada ojo una vez, dos o tres veces al día. Las dosis administradas incluirán soluciones de placebo (vehículo PBS) 0,1%, 0,3%, 1% y 5% del Compuesto 12. Para mejorar el cumplimiento del paciente, el Compuesto 12 puede administrarse como una formulación de liberación lenta que administra el medicamento a la retina durante el curso del estudio.

[0376] En el momento de la inscripción, los pacientes deben tener un diagnóstico de AMD húmeda o seca. Los pacientes también pueden tener edema macular diabético concomitante. Los pacientes recibirán un medicamento y se les pedirá que registren la administración de cada dosis de medicamento en diarios del paciente. Los pacientes serán evaluados cada 2 meses durante la duración del estudio. Cada examen del paciente incluirá evaluaciones de seguridad, agudeza visual, examen con lámpara de hendidura, fundoscopia dilatada.

[0377] Las medidas objetivas incluirán: la mejor agudeza visual corregida; prevención de la progresión de la atrofia geográfica; y prevención de la conversión a neovascular (AMD húmeda).

[0378] Los resultados de este ensayo respaldarán los reclamos regulatorios para la prevención de la atrofia geográfica relacionada con la AMD seca; puede usarse junto con un biomarcador genético u otro tipo de estudio de diagnóstico que prediga sujetos con alto riesgo; y puede usarse junto con agentes antioxidantes y/o anti-neovasculares o anti-VEGF.

Ejemplo 16: Fase 2 Dermatitis atópica

[0379] Los sujetos con dermatitis atópica serán tratados con el Compuesto 12 durante hasta 12 meses. El fármaco se suministrará como una formulación dermatológica adecuada para aplicación local (crema, loción, gel o pomada) que contenga el Compuesto 12. Cada grupo de sujetos de prueba se tratará QD, BID o TID con diferentes dosis de gotas

oftálmicas del Compuesto 12 o placebo en formulación. El fármaco será autoadministrado por cada sujeto frotando suavemente sobre el área afectada. Las dosis administradas incluirán preparaciones de placebo (vehículo) 0,1%, 0,3%, 1% y 2% del Compuesto 12. Para mejorar el efecto, las áreas tratadas pueden cubrirse con un vendaje oclusivo. Para mejorar el cumplimiento del paciente, el fármaco se puede administrar como un parche impregnado de fármaco de liberación lenta.

[0380] En la inscripción, los pacientes deben tener un diagnóstico de dermatitis atópica. Los pacientes recibirán un medicamento y se les pedirá que registren la administración de cada dosis de medicamento en diarios del paciente. Los pacientes serán evaluados cada 2 semanas durante la duración del estudio. Cada examen del paciente incluirá evaluaciones de seguridad y tolerabilidad. Las medidas de eficacia incluirán una evaluación global de un médico, una reducción en el área de superficie corporal afectada o una reducción en el puntaje de prurito.

[0381] Los resultados de este ensayo respaldarán las declaraciones regulatorias al tratamiento de la dermatitis atópica.

Ejemplo 17: Enfermedad de Crohn, Colitis ulcerosa o EII (Ejemplo de referencia)

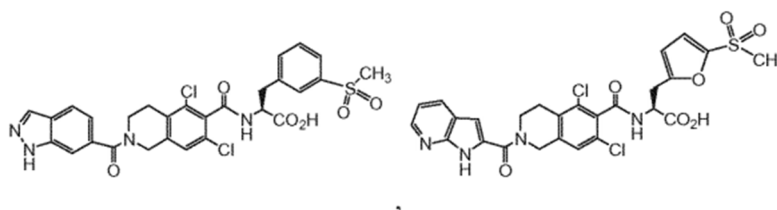
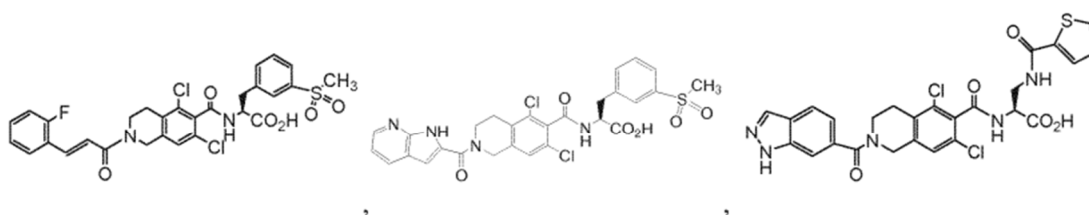
[0382] Los sujetos con enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o EII se tratarán con el Compuesto 12 durante hasta 12 meses. El medicamento se suministrará como una formulación adecuada para la administración oral (solución, píldora o cápsula) que contiene el Compuesto 12. Una forma de dosificación de solución oral típica incluiría el Compuesto 12 disuelto en PBS ajustado a pH 7. Cada grupo de sujetos de prueba será tratado QD, BID o TID con diferentes dosis fuertes del Compuesto 12 o placebo en la formulación. El fármaco será administrado por cada sujeto por vía oral. Las dosis administradas incluirán placebo (vehículo) 1 mg por dosis, 5 mg por dosis, 10 mg por dosis y hasta 100 mg por dosis del Compuesto 12 en la formulación.

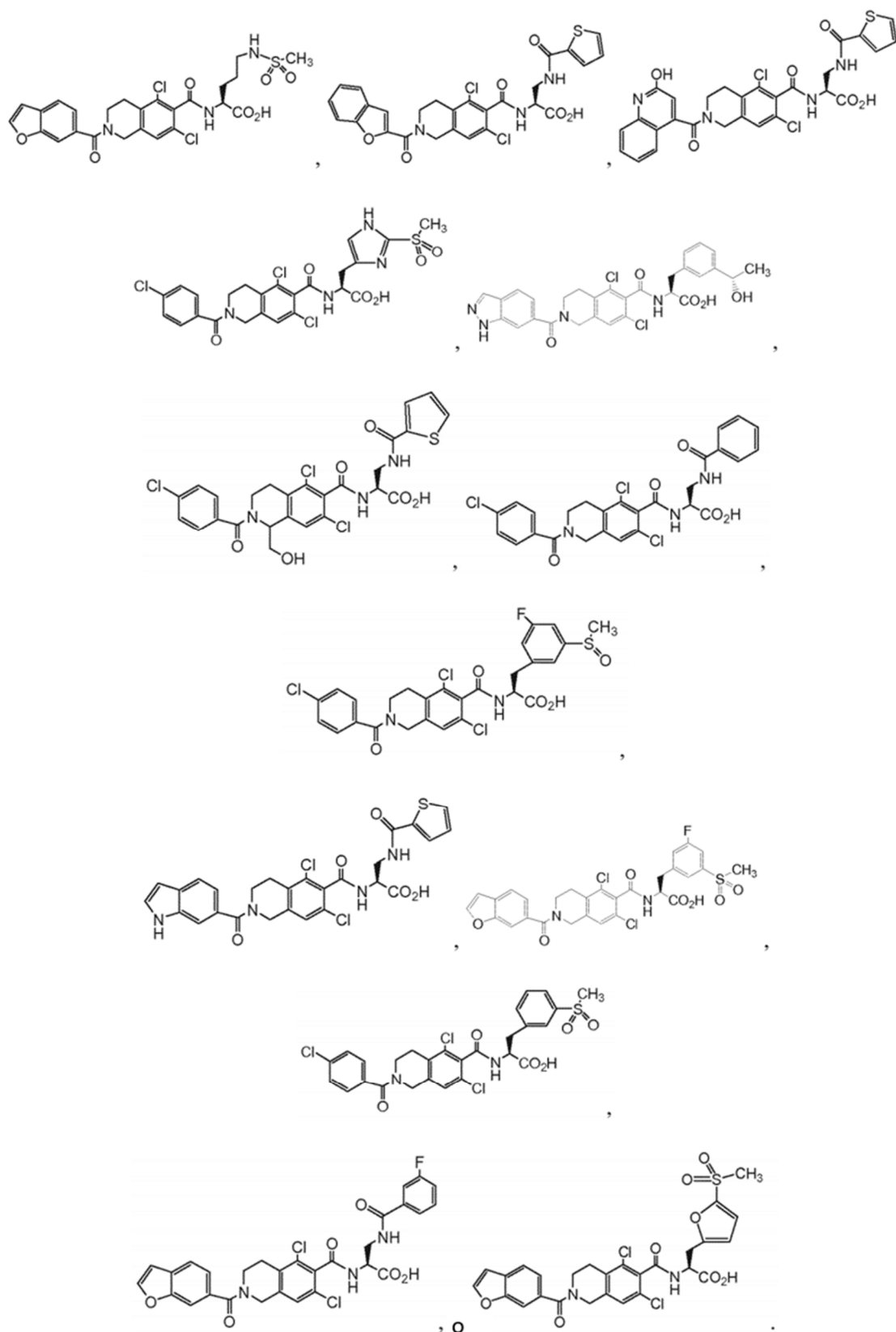
[0383] En la inscripción, los pacientes deben tener un diagnóstico de enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o EII. Los pacientes recibirán el medicamento y deberán registrar la administración de cada dosis de medicamento en los diarios del paciente. El tratamiento con el Compuesto 12 se puede usar junto con antiinflamatorios actuales (p. ej., salicilatos) e inmunosupresores (metotrexatos, esteroides, anticuerpos).

[0384] Los pacientes serán evaluados cada 2 semanas durante la duración del estudio. Cada examen del paciente incluirá evaluaciones de seguridad y tolerabilidad. Las medidas de eficacia incluirán el índice de actividad de la enfermedad de Crohn (CAI); índice de actividad de la enfermedad o escala similar para la colitis ulcerosa.

[0385] Los resultados de este ensayo respaldarán las demandas regulatorias para el tratamiento y mantenimiento de la remisión de la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa y/o EII.

(d) una solución acuosa tamponada a un pH de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,0 con fosfato de sodio, monobásico, que comprende aproximadamente 1% p/v de un antagonista de LFA-1, hasta aproximadamente 0,1% p/v EDTA, y, opcionalmente, hasta aproximadamente 0,4% p/p de metilparabeno y hasta aproximadamente 0,02% p/p de propilparabeno;





2. La formulación de la reivindicación 1 en donde el antagonista de LFA-1 es una sal de sodio, potasio, litio, magnesio, zinc o calcio.

3. La formulación de la reivindicación 1, en donde el excipiente es agua, solución acuosa tamponada, tensioactivo, líquido volátil, almidón, poliol, agente de granulación, microcristalinacelulosa, diluyente, lubricante, ácido, base, sal, emulsión, aceite, agente humectante, agente quelante, antioxidante, solución estéril, agente complejante o agente desintegrante.

4. La formulación de la reivindicación 3, en donde el tensioactivo es ácido oleico, cloruro de cetilpiridinio, lecitina de soja, polioxietilen monolaurato de sorbitán, monoestearato de polioxietileno sorbitán, monooleato de polioxietileno sorbitán, éter polioxietilen estearilo, polioxietileno oleil éter, copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno-etilendiamina, polioxipropileno copolímero de bloque de polioxietileno o etoxilato de aceite de ricino.

5. La formulación de la reivindicación 1, que comprende además un potenciador de la penetración tópica.

6. La formulación de la reivindicación 5, en donde el potenciador de la penetración tópica es un sulfóxido, éter, tensioactivo, alcohol, ácido graso, éster de ácido graso, poliol, amida, terpeno, alcano o ácido orgánico.

7. La formulación de la reivindicación 1, que comprende además al menos un agente terapéutico adicional.

8. La formulación de la reivindicación 7, en donde el agente terapéutico adicional es un antioxidante, agente antiinflamatorio, agente antimicrobiano, agente antiangiogénico, agente antiapoptótico, inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular, agente antiviral, inhibidor de la calcineurina, corticosteroide o inmunomodulador.

9. Una formulación como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio o relacionado con el sistema inmune en un sujeto, en donde el trastorno inflamatorio o relacionado con el sistema inmunitario es psoriasis, dermatitis de contacto irritante, dermatitis eccematosa, dermatitis seborreica, cutánea manifestaciones de trastornos inmunológicamente mediados, alopecia, alopecia areata, esclerodoma, formación de cicatrices, dermatitis atópica, hidradentis suppurativa, artritis reumatoide, artritis psoriásica o artralgia.

10. La formulación para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la formulación se administra en una dosis de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg.

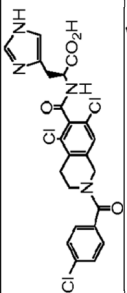
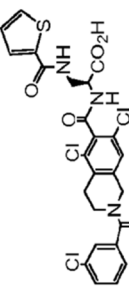
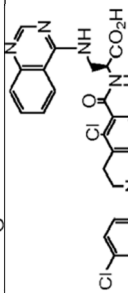
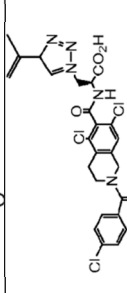
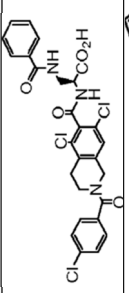
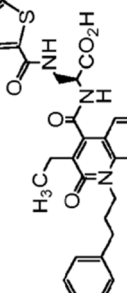
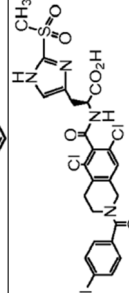
N°	Estructura	Hut78 CE50 (μ M)	SEB 10% HS CE50 (μ M)	MDCK AB (cm/seg)	MDCK BA (cm/seg)	Rata IV CI (mL/min/kg)
1		**				##
2		****	++	//	/	##
3		****	+	//	//	##
4		***		//	//	##
5		****	+			##
6		****		//	///	##
7		****		/	//	##

FIGURA 1A

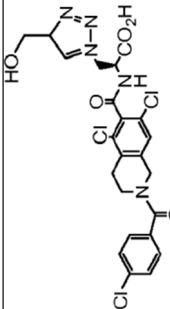
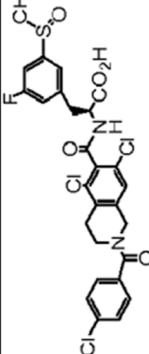
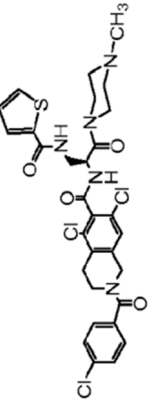
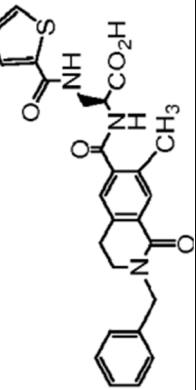
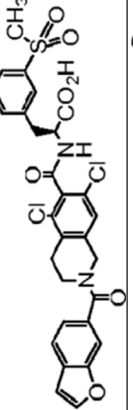
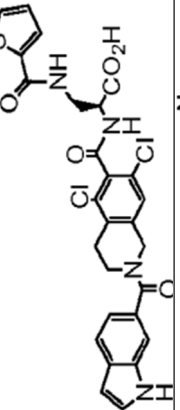
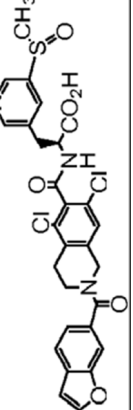
N°	Estructura	Hut78 CE50 (μ M)	SEB 10% HS CE50 (μ M)	MDCK AB (cm/seg)	MDCK BA (cm/seg)	Rata IV CI (mL/min/kg)
8		***		//	///	##
9		****	+++			##
10				//	///	##
11		*		//	//	##
12		****	++++			##
13		****	+	//	//	##
14		****	++++			##

FIGURA 1B

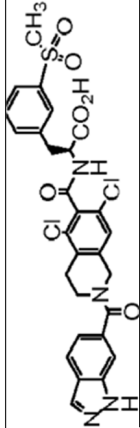
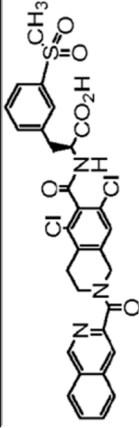
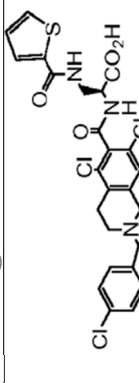
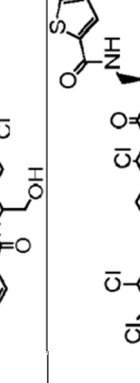
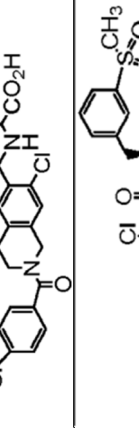
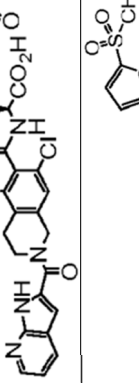
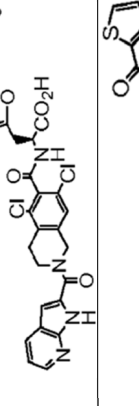
N°	Estructura	Hut78 CE50 (μ M)	SEB 10% HS CE50 (μ M)	MDCK AB (cm/seg)	MDCK BA (cm/seg)	Rata IV CI (mL/min/kg)
15		****	++++			##
16		****	+++			##
17		****		//	///	##
18		****	+			#
19		****	+++			#
20		****	++++			#
21		****		//	//	#

FIGURA 1C

N°	Estructura	Hut78 CE50 (μ M)	SEB 10% HS CE50 (μ M)	MDCK AB (cm/seg)	MDCK BA (cm/seg)	Rata IV CI (mL/min/kg)
22		****	+++			#
23		****	++++			#
24		***	+	//	///	#
25		****	+++			#
26		****				#
27		****	+++			#
28		****	+++			#
29		*		//	/	#

FIGURA 1D

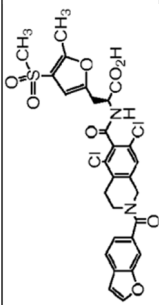
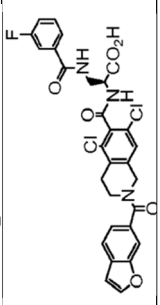
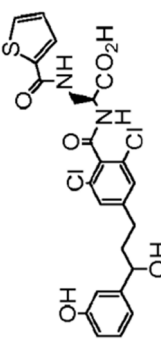
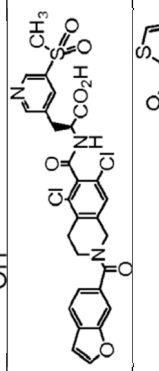
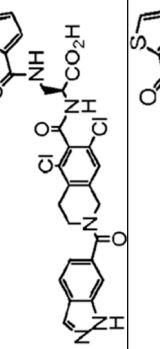
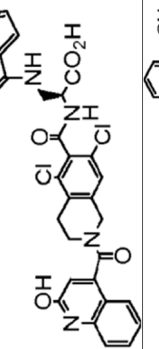
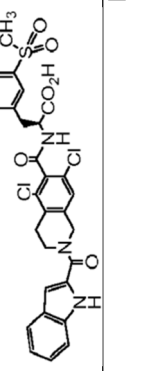
N°	Estructura	Hut78 CE50 (μ M)	SEB 10% HS CE50 (μ M)	MDCK AB (cm/seg)	MDCK BA (cm/seg)	Rata IV CI (mL/min/kg)
30		****	++++			#
31		****	+			#
32		****	+++			#
33		****	++++			#
34		****	+	//	//	#
35		****				#
36		****	+++			#

FIGURA 1E

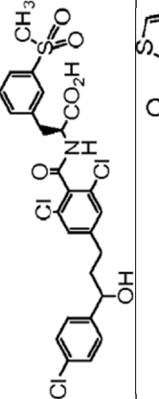
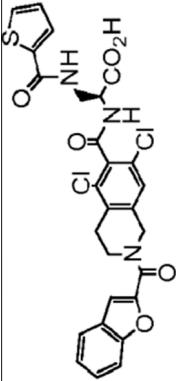
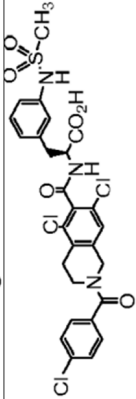
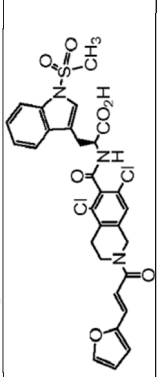
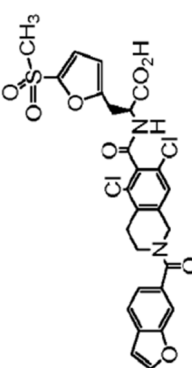
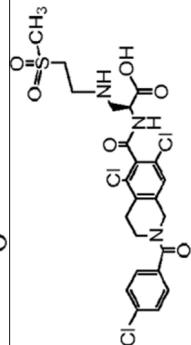
N°	Estructura	Hut78 CE50 (μ M)	SEB 10% HS CE50 (μ M)	MDCK AB (cm/seg)	MDCK BA (cm/seg)	Rata IV CI (mL/min/kg)
37		***	+++			#
38		****	+	///	///	#
39		****		///	///	#
40		**				#
41		****	++++			#
42		*	++			#

FIGURA 1F

Para Figuras 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F y 1G: Las marcas en la columna Hut78 CE50 representan valores CE ₅₀ como sigue	
*	3 µM o menos
**	300 nM o menos
***	100 nM o menos
****	50 nM o menos

Las marcas en SEB 10% HSCE50 (µM) representan valores CE ₅₀ como sigue:	
*	15 µM o menos
**	1,5 nM o menos
***	500 nM o menos
****	150 nM o menos

Intervalo de puntuación para MDCK AB y BA	
/	Hasta 0,2 cm/seg
//	0,2 a 1 cm/seg
///	Mayor que 1 cm/seg

Intervalo de puntuación para Rata IV CI	
#	Hasta 100 mL/min/kg
##	Mayor que 100 mL/min/kg

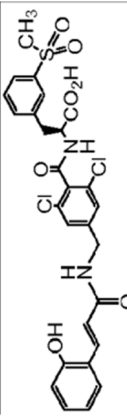
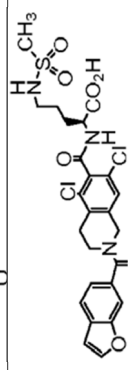
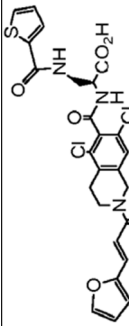
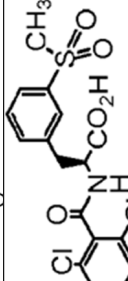
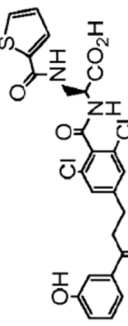
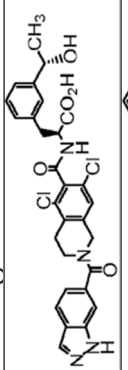
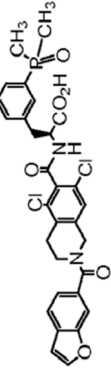
N°	Estructura	Hut78 CE50 (µM)	SEB 10% HS CE50 (µM)	MDCK AB (cm/seg)	MDCK BA (cm/seg)	Rata IV CI (mL/min/kg)
43		****	++++			#
44		****	++++			#
45		****	+	//	//	#
46		***	++			#
47		****		/	/	#
48		****		/	/	#
49		***	+++	//	//	#

FIGURA 1G

FIG. 2

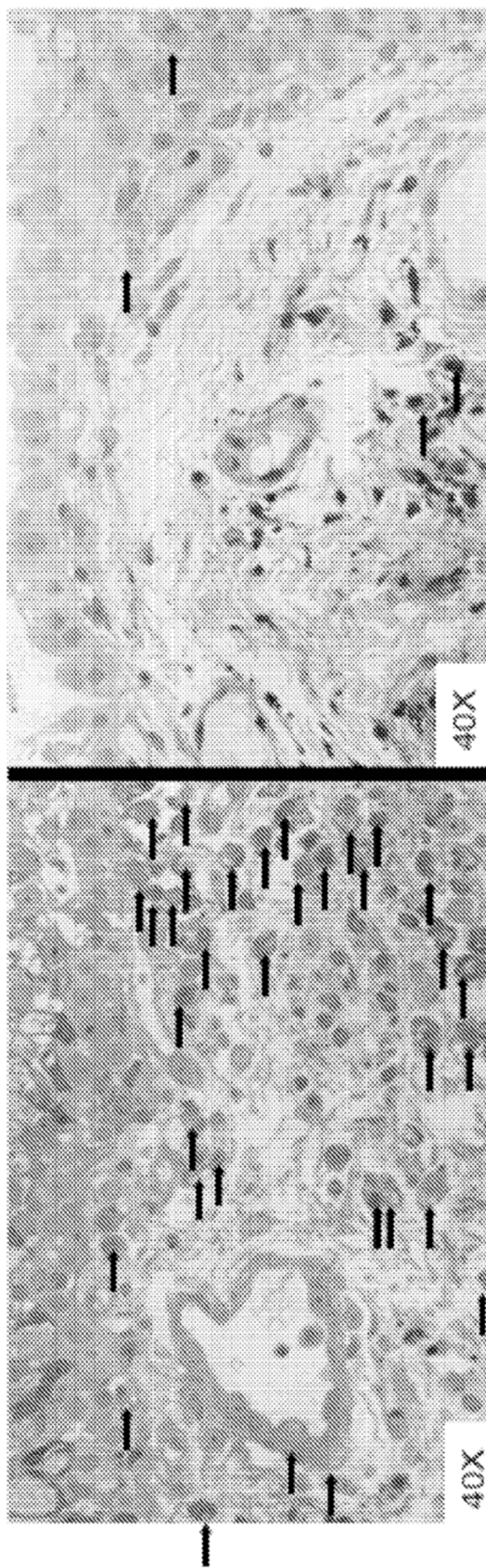


FIG. 3

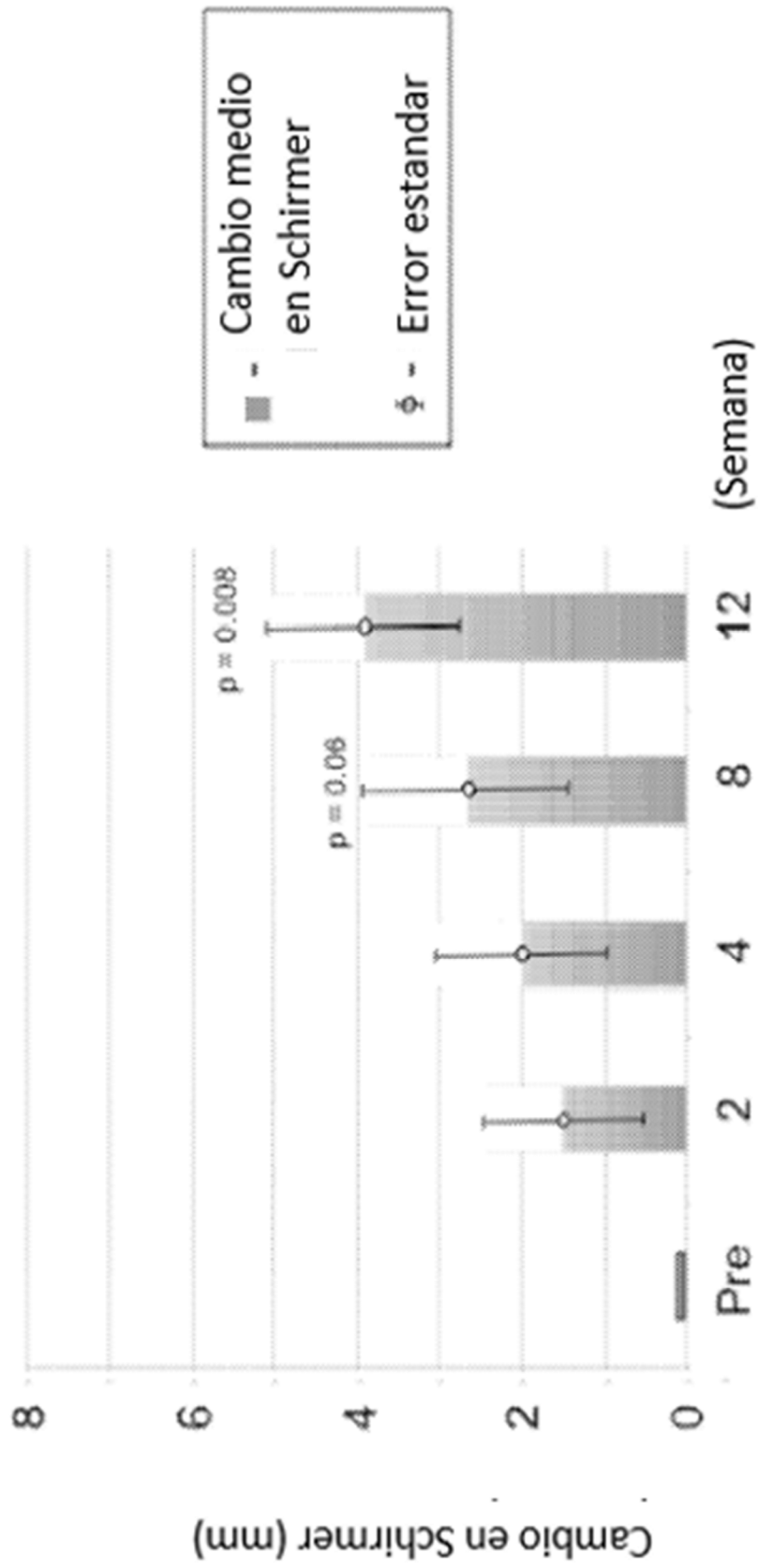


FIG. 4

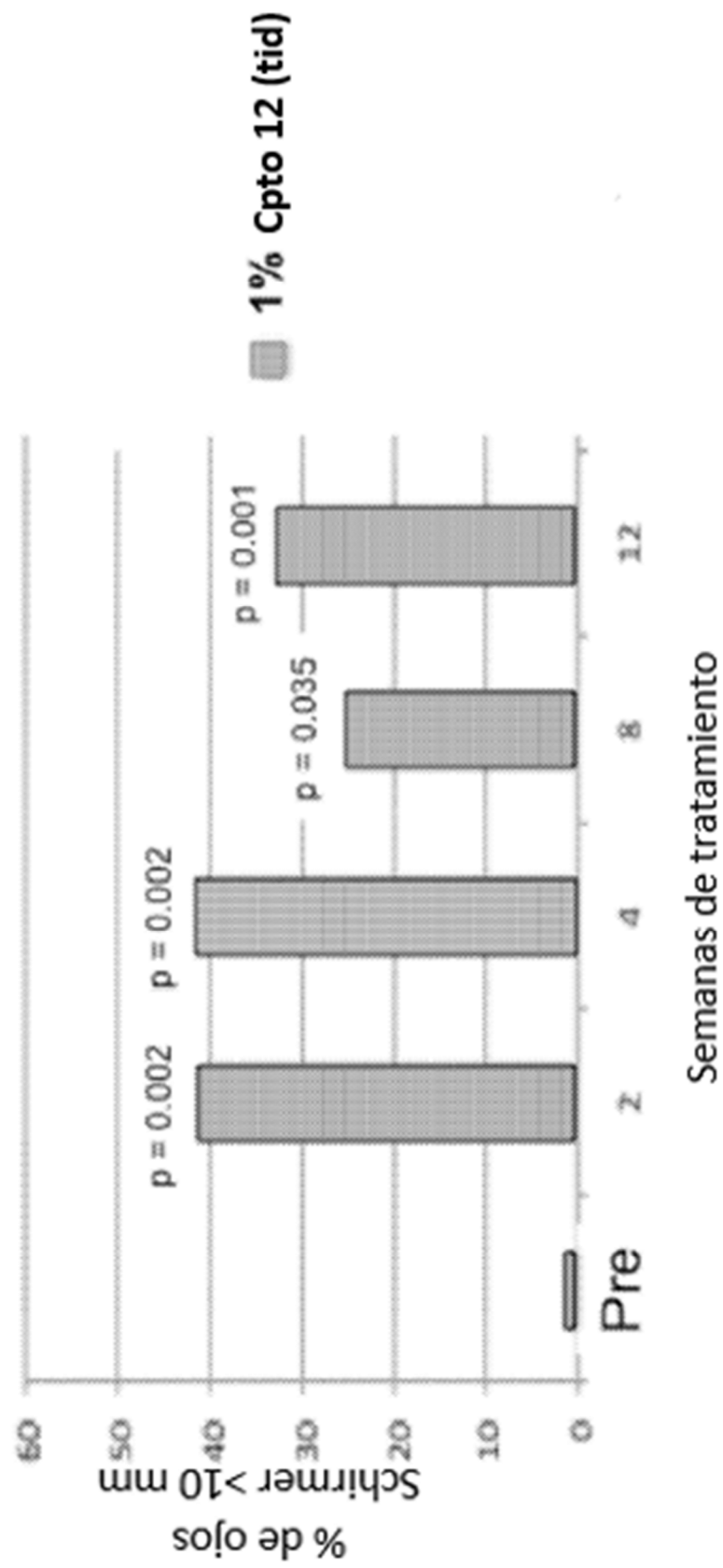


FIG. 5

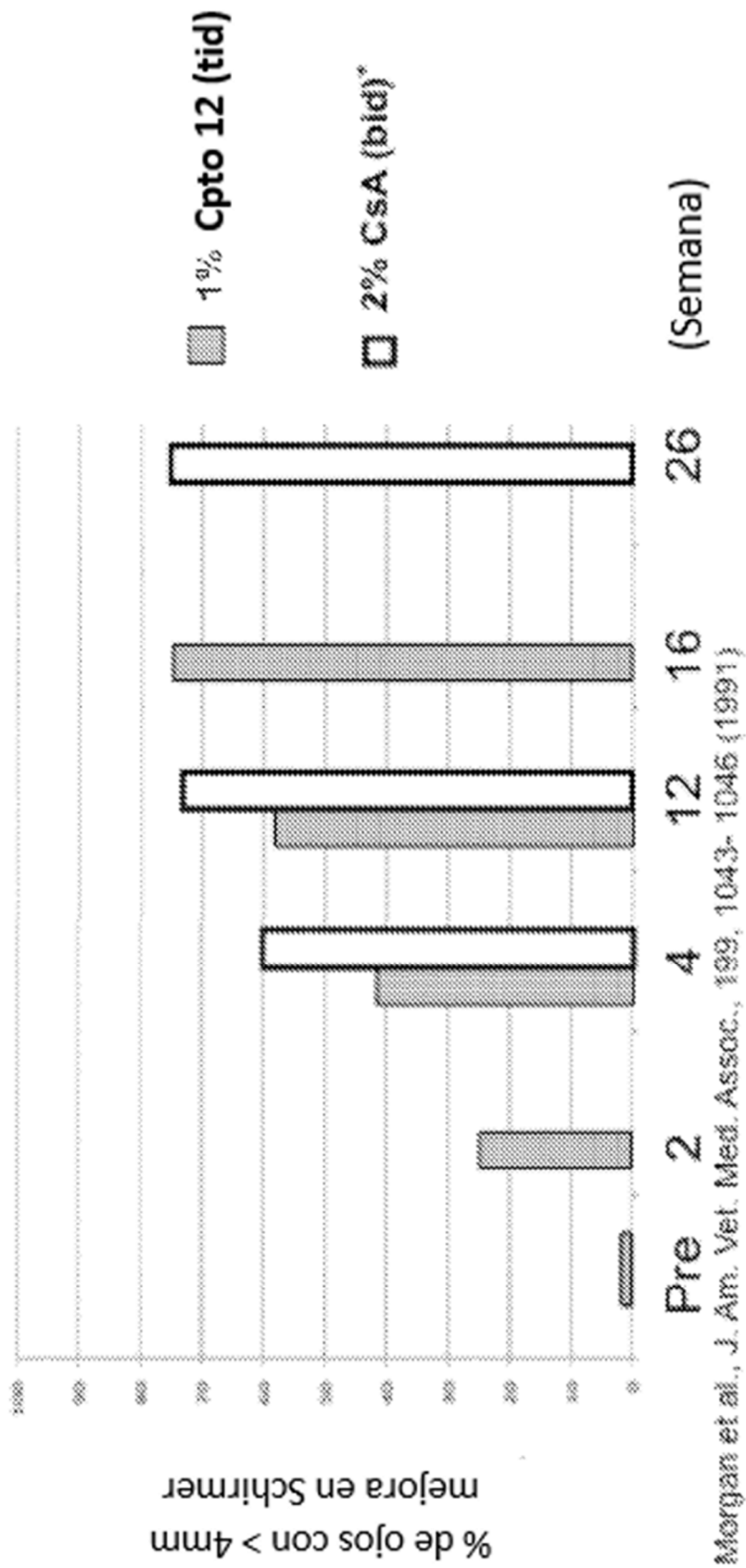


FIG. 6
Niveles plasmáticos medios del Compuesto 12 (5% formulación)

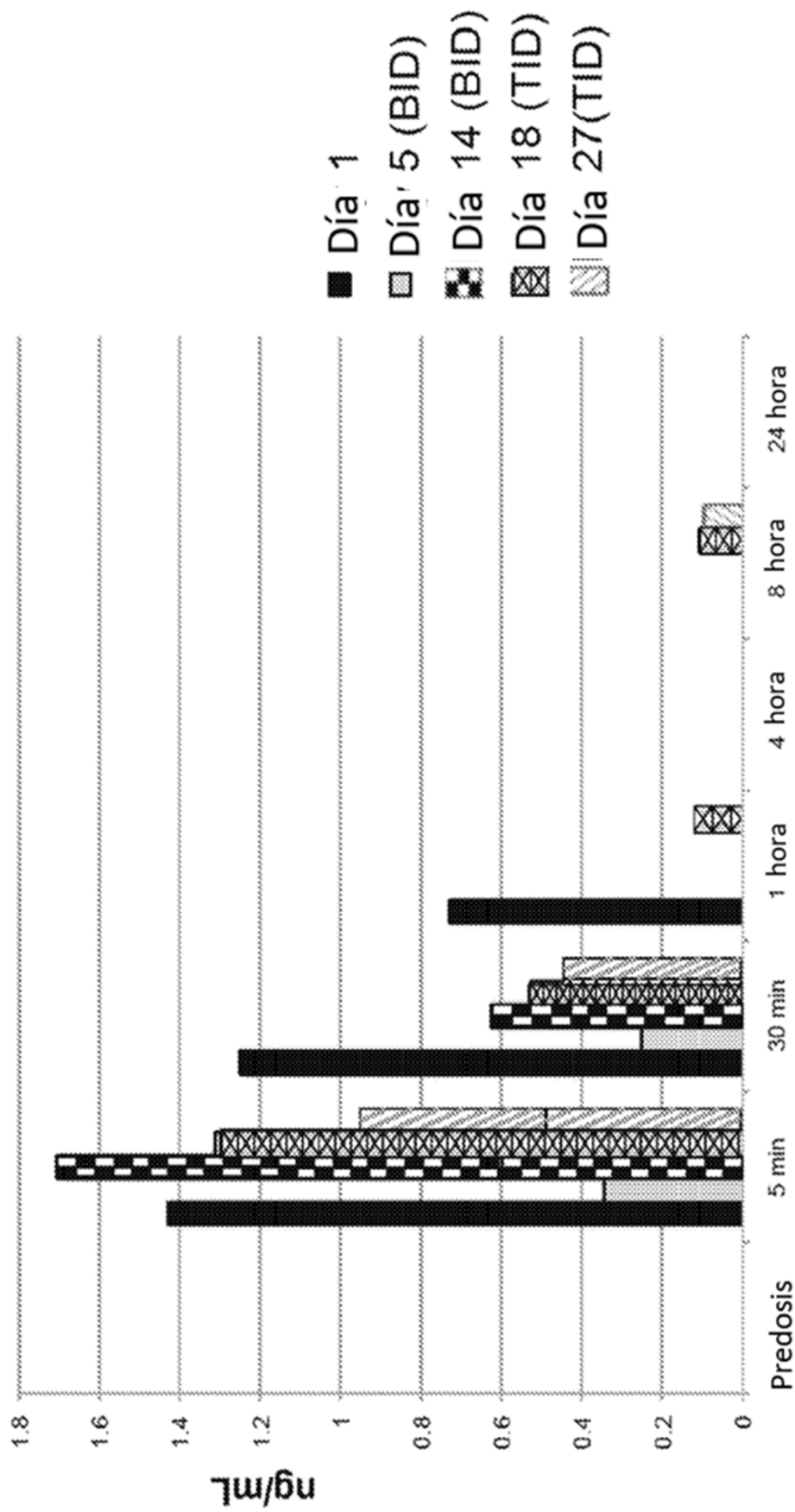


FIG. 7

Niveles de lágrima C_{min} del Compuesto 12 (1% formulación)

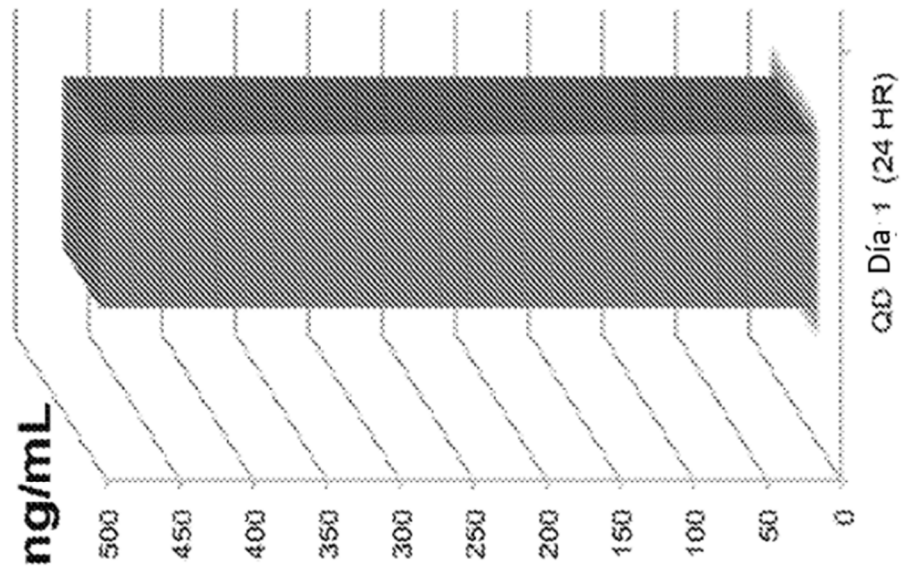


FIG. 8

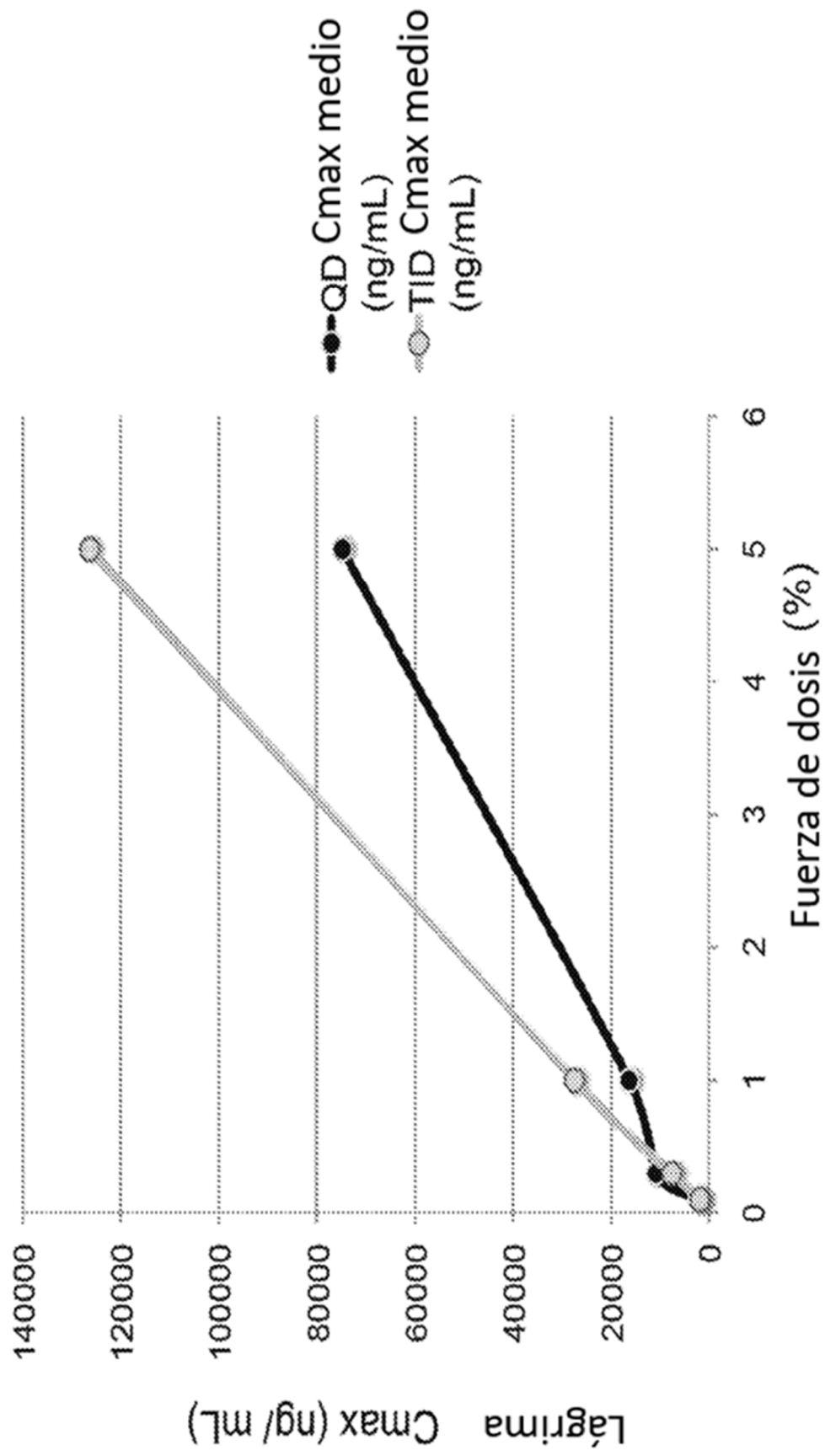


FIG. 9

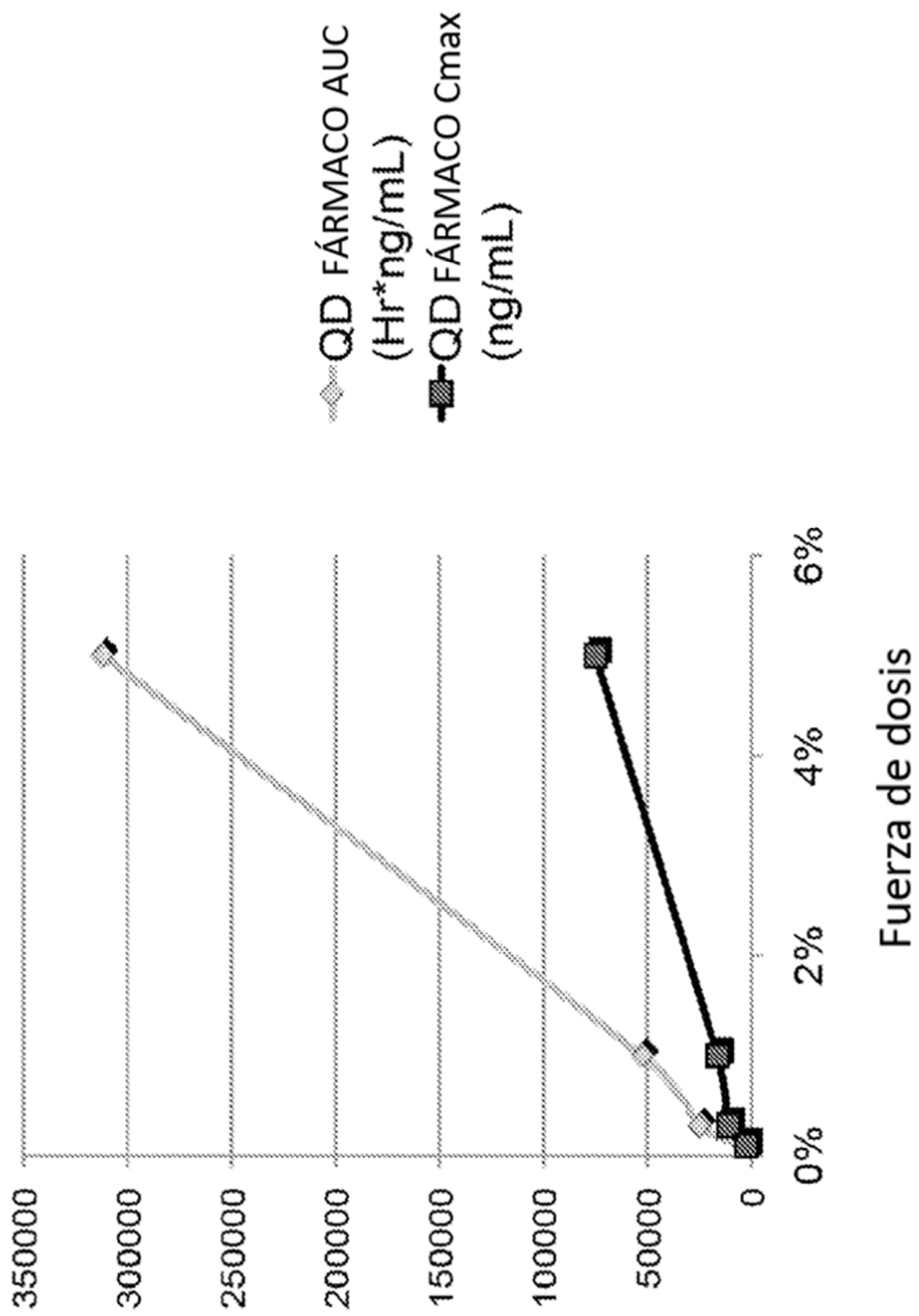


FIG. 10

0.5 hr

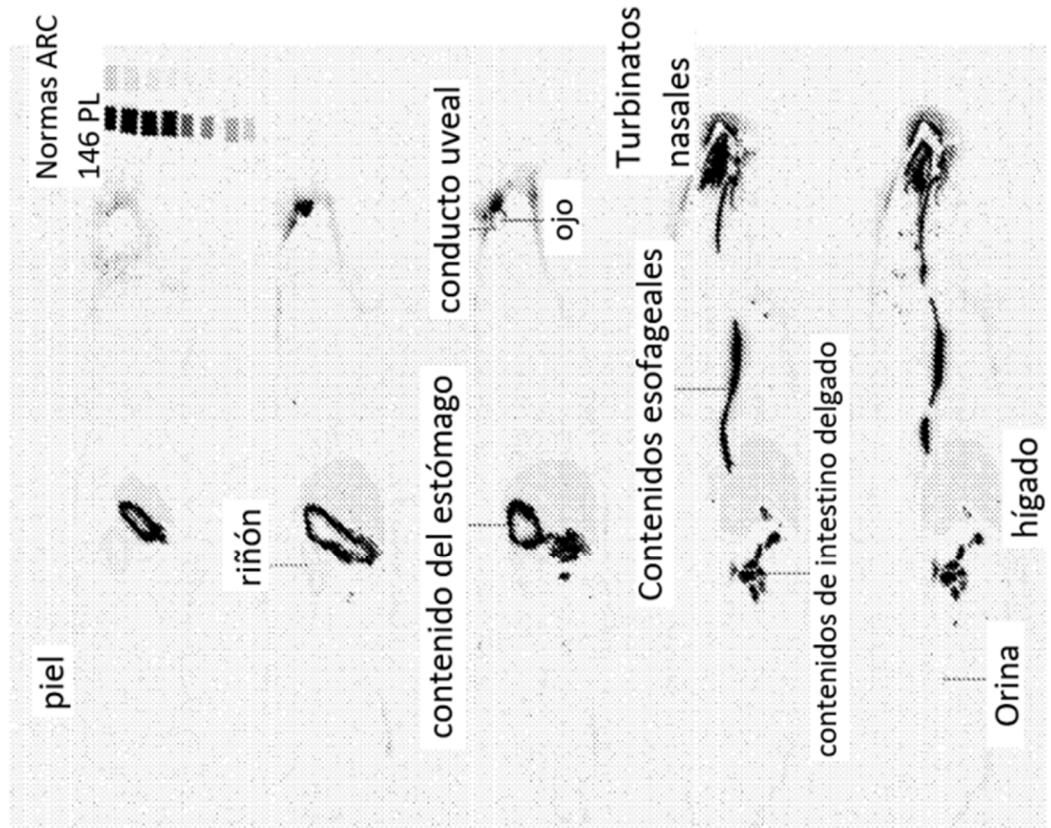


FIG. 11

2 hr

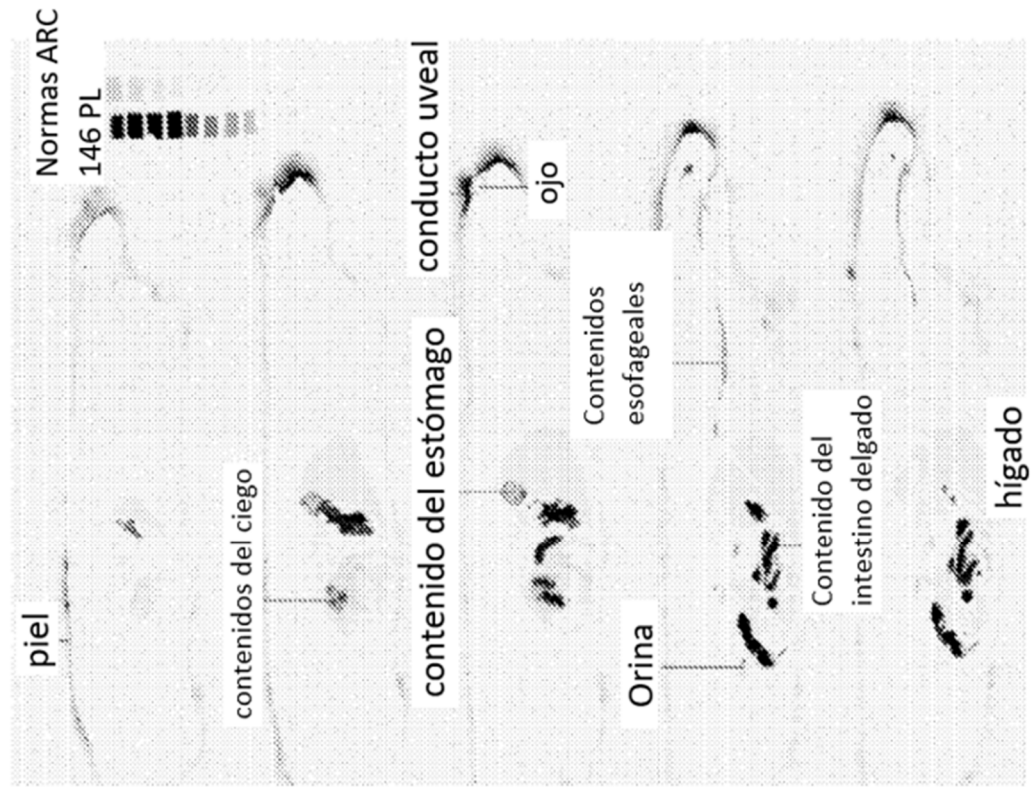


FIG. 12

8 hr

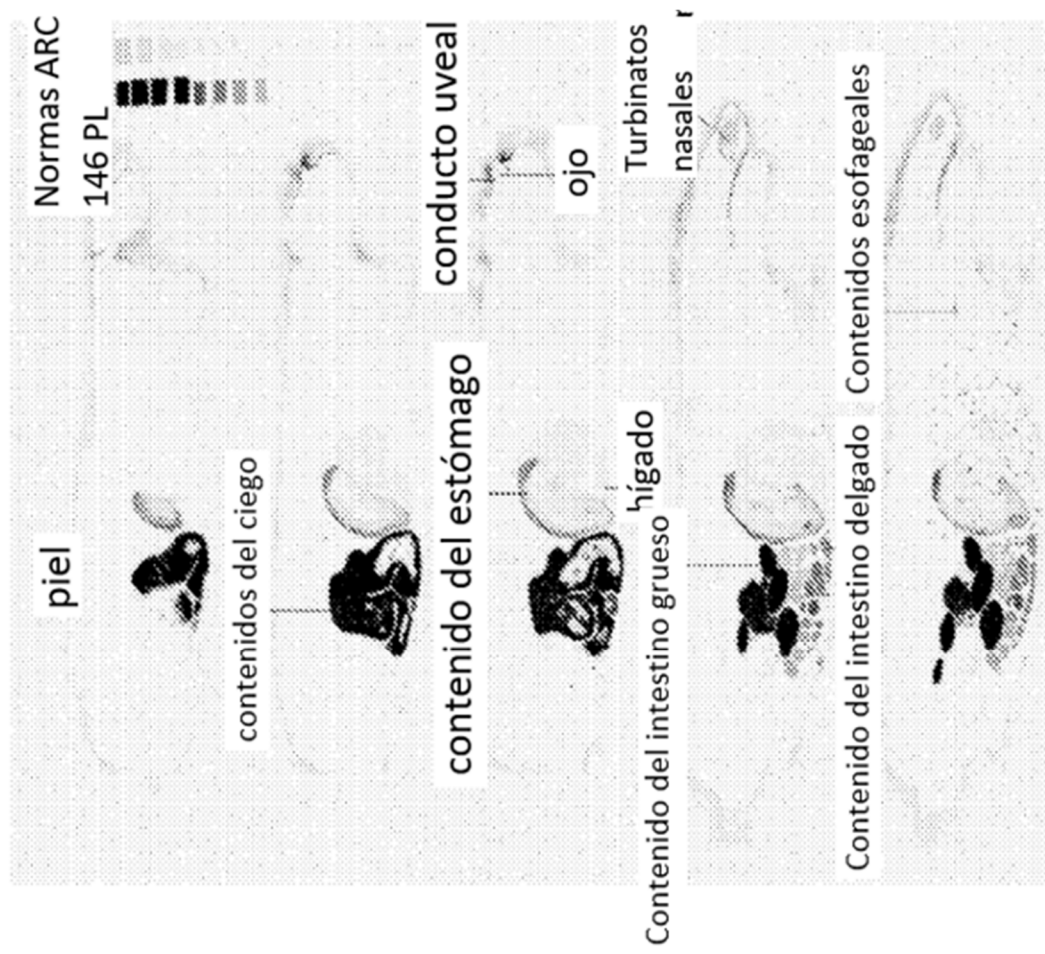


FIG. 13
12 hr

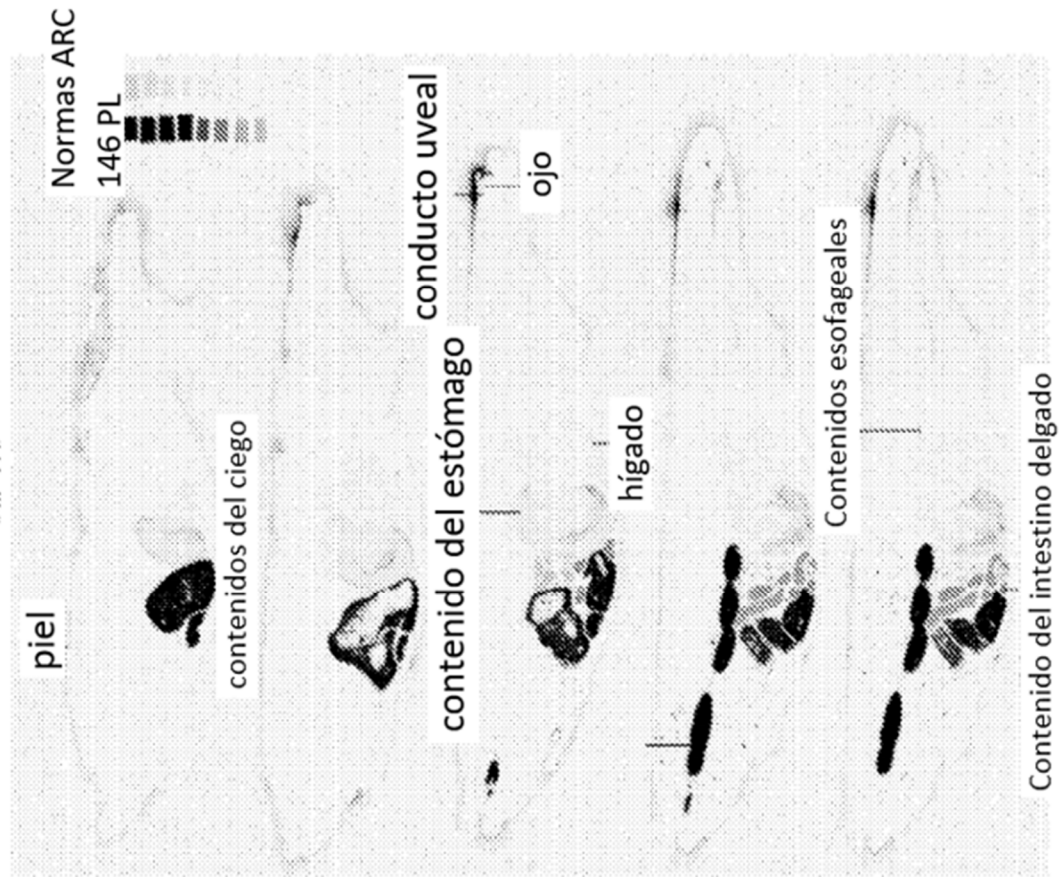


FIG. 14
24 hr

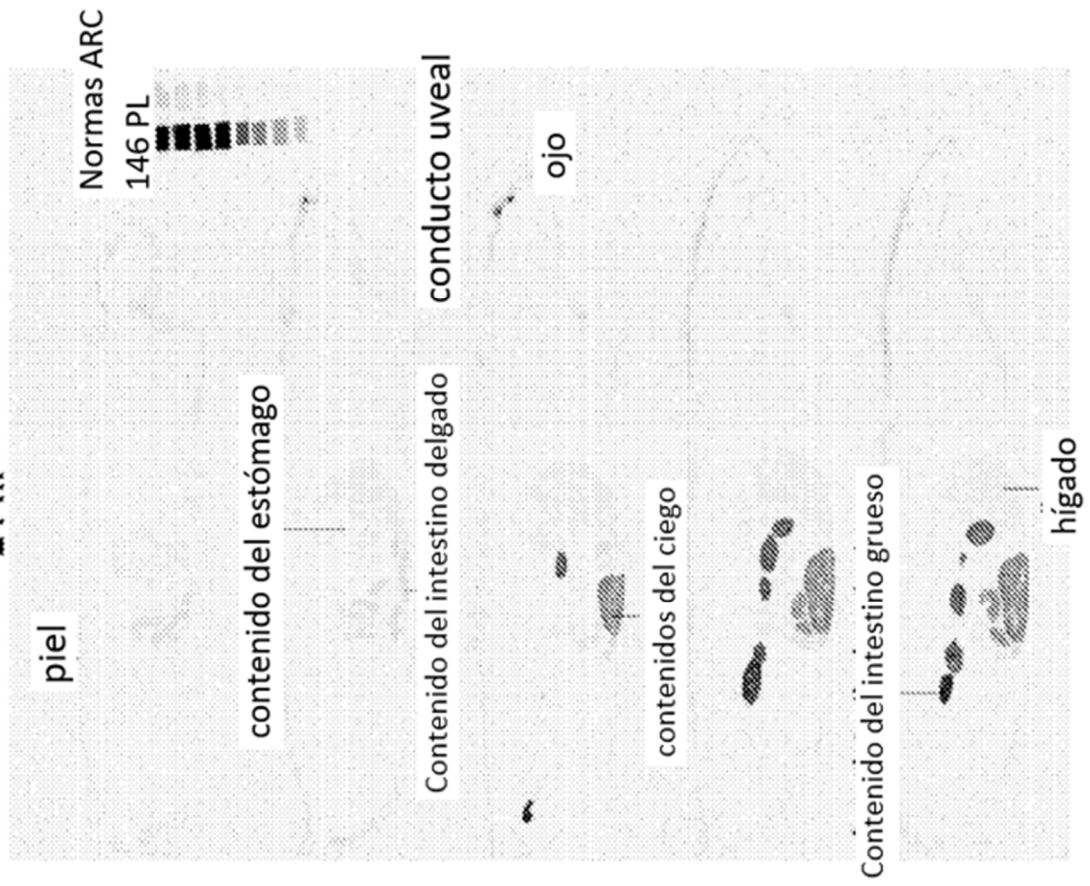
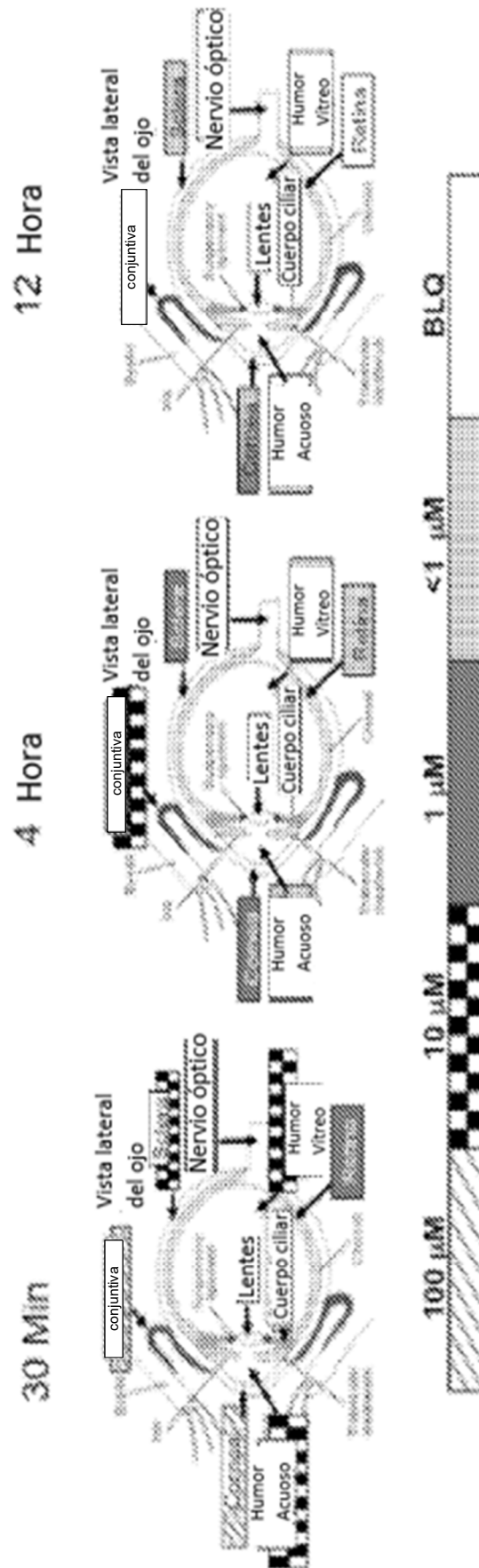


FIG. 15

Farmacocinética de ojo de rata



Concentración de [^{14}C]-Compuesto 12

FIG. 16

Farmacocinética ocular canino

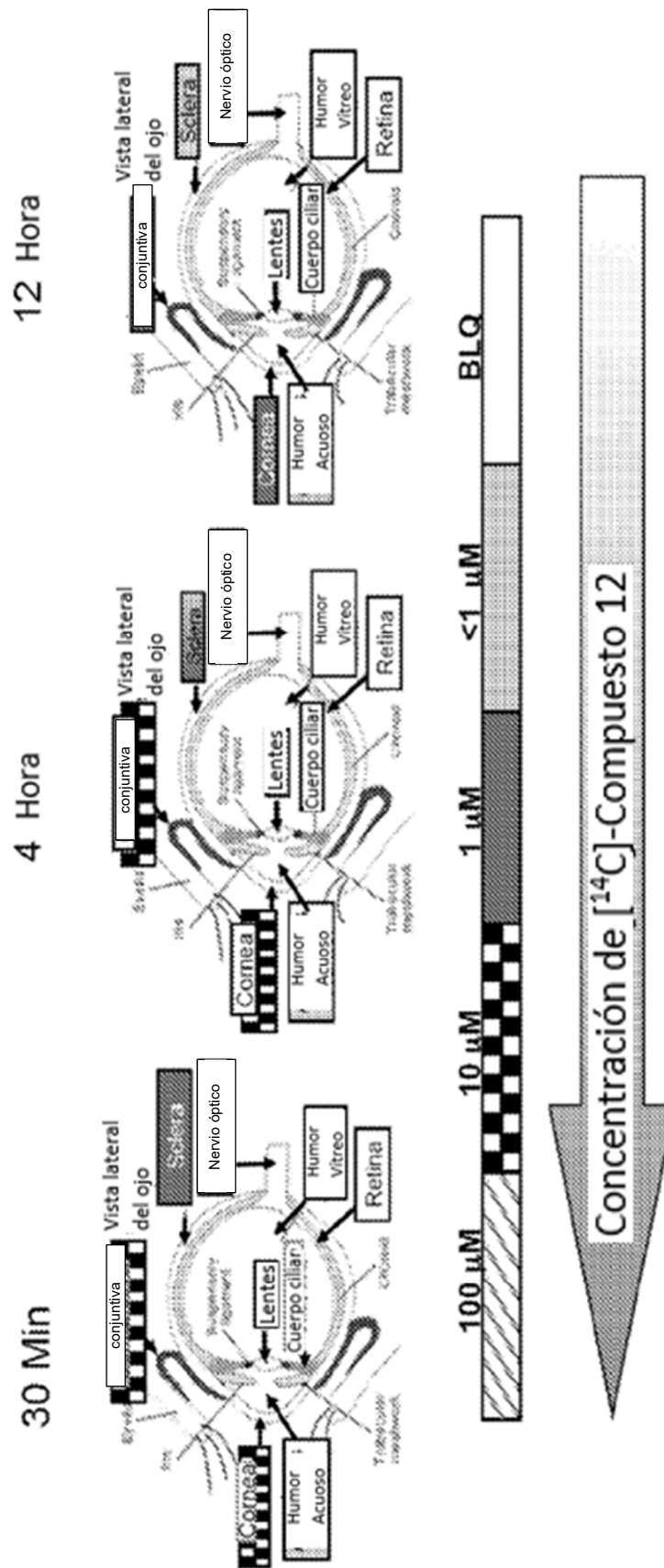
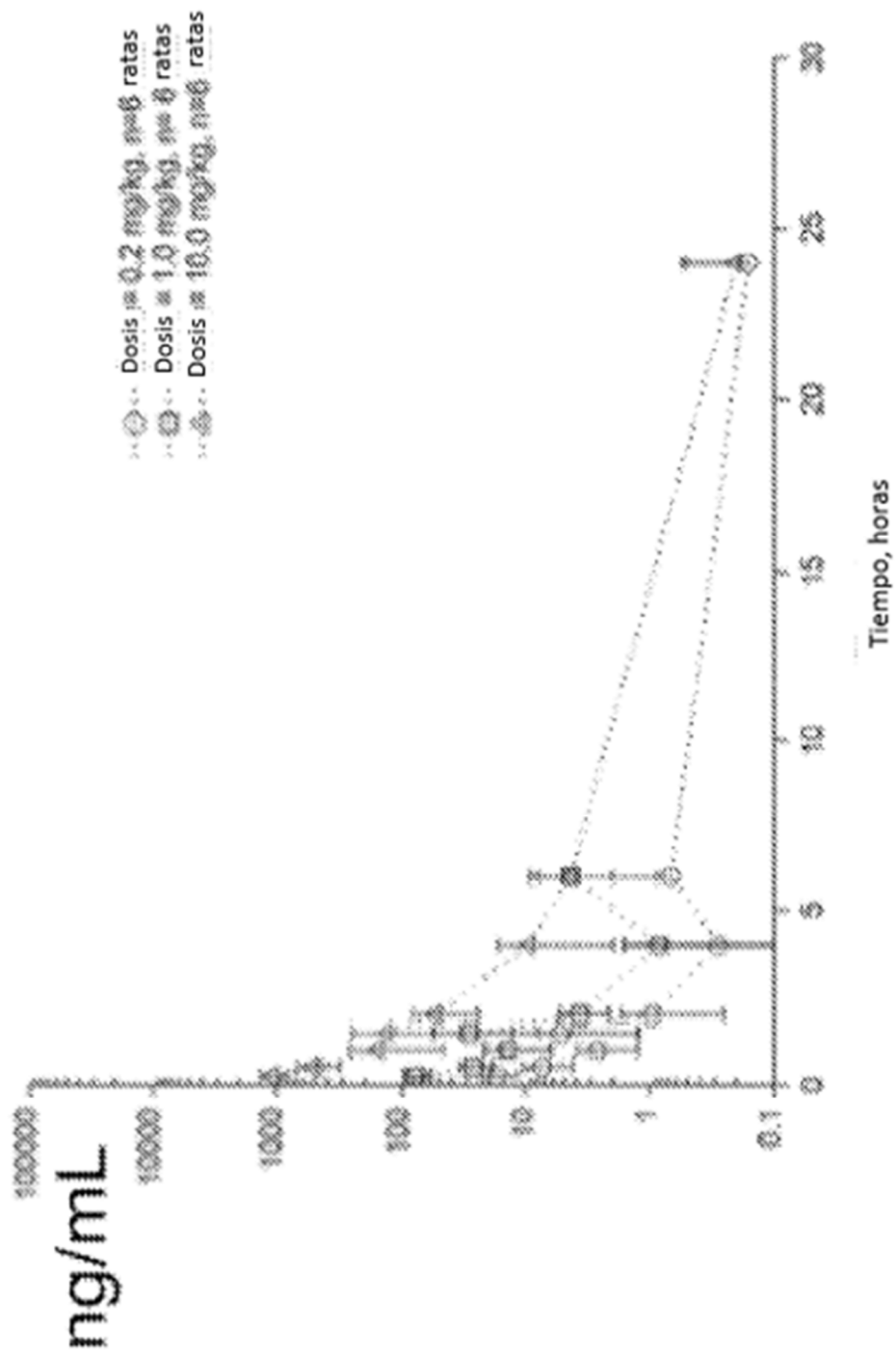
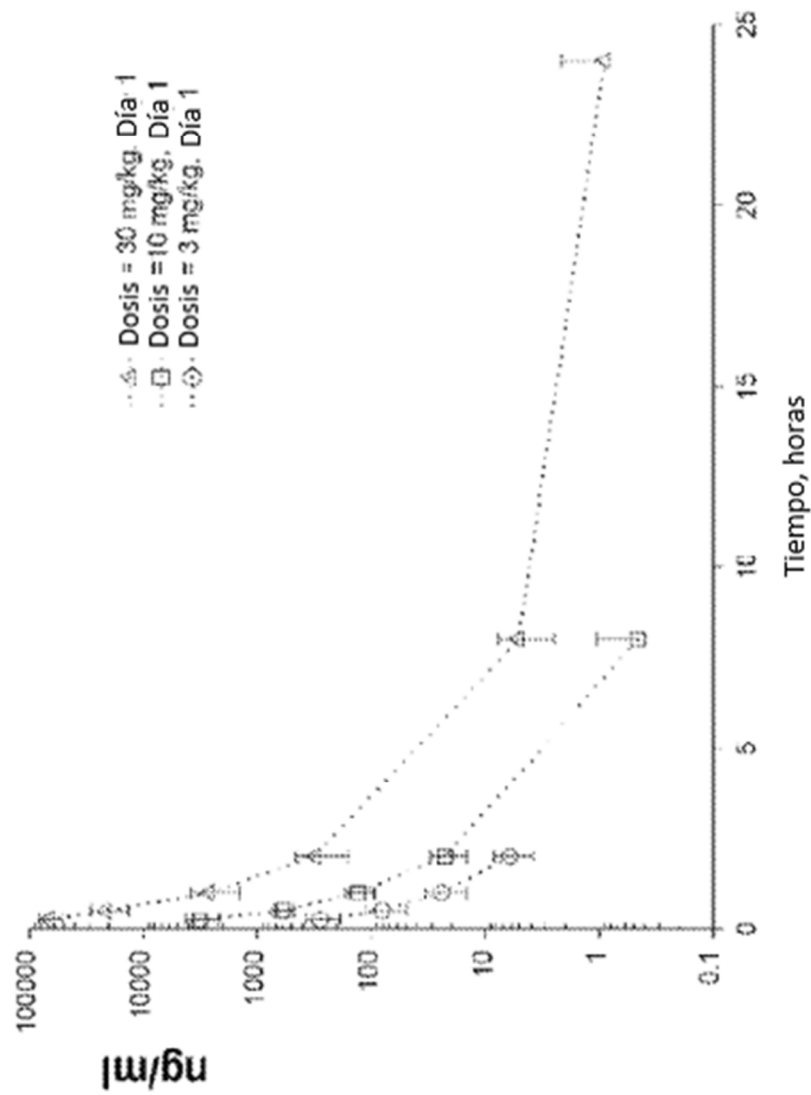


FIG. 17



Concentraciones medias plasmáticas del Compuesto 12 después de la
inyección intravenosa del artículo de prueba en el día 1

FIG. 18



Concentración media plasmática del Compuesto 12 en perros macho y hembra (n=6-10) después de una sola dosis intravenosa de 3, 10 o 30 mg/kg del artículo de prueba en el día 1.

FIG. 19

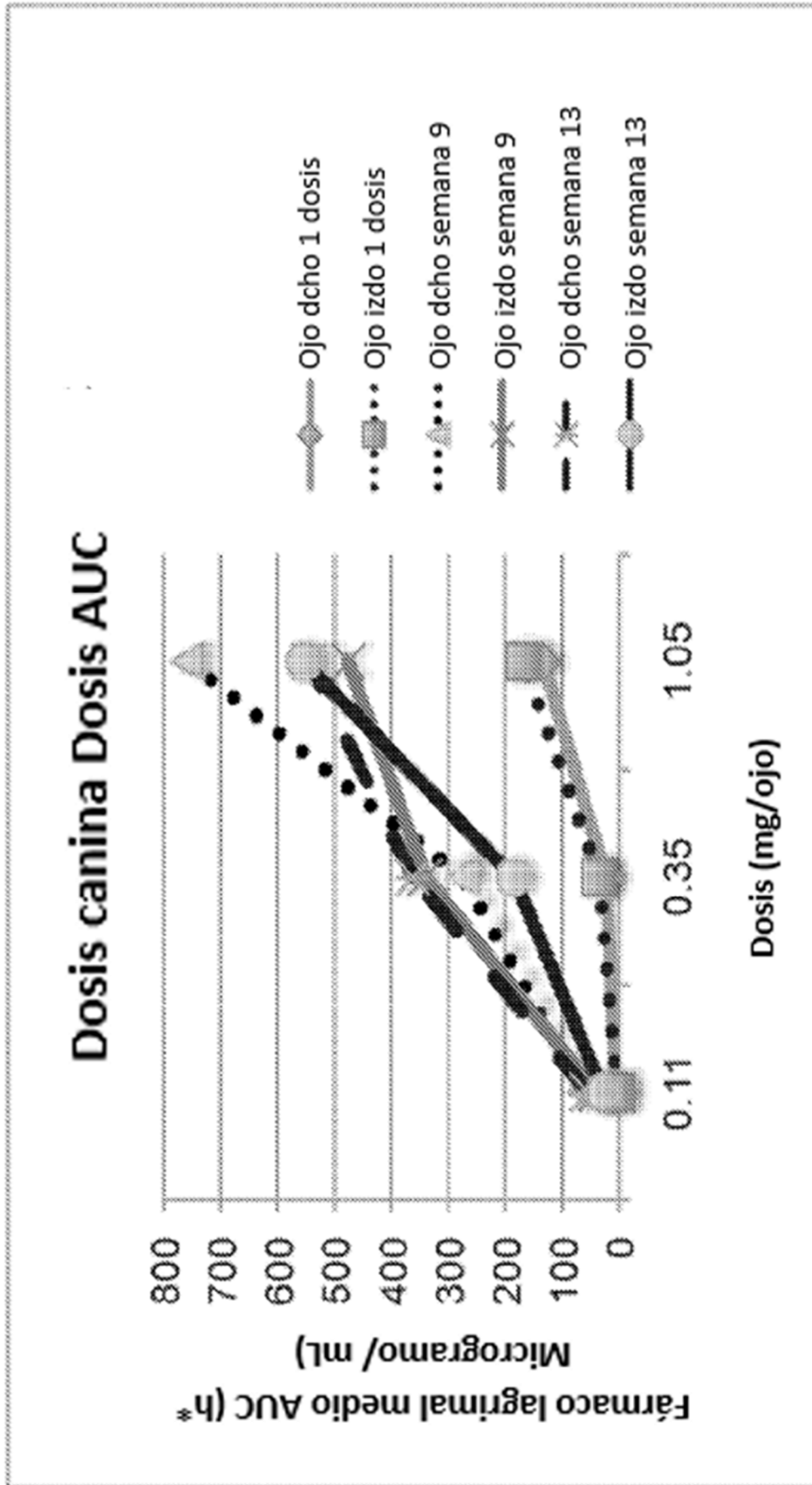


FIG. 20

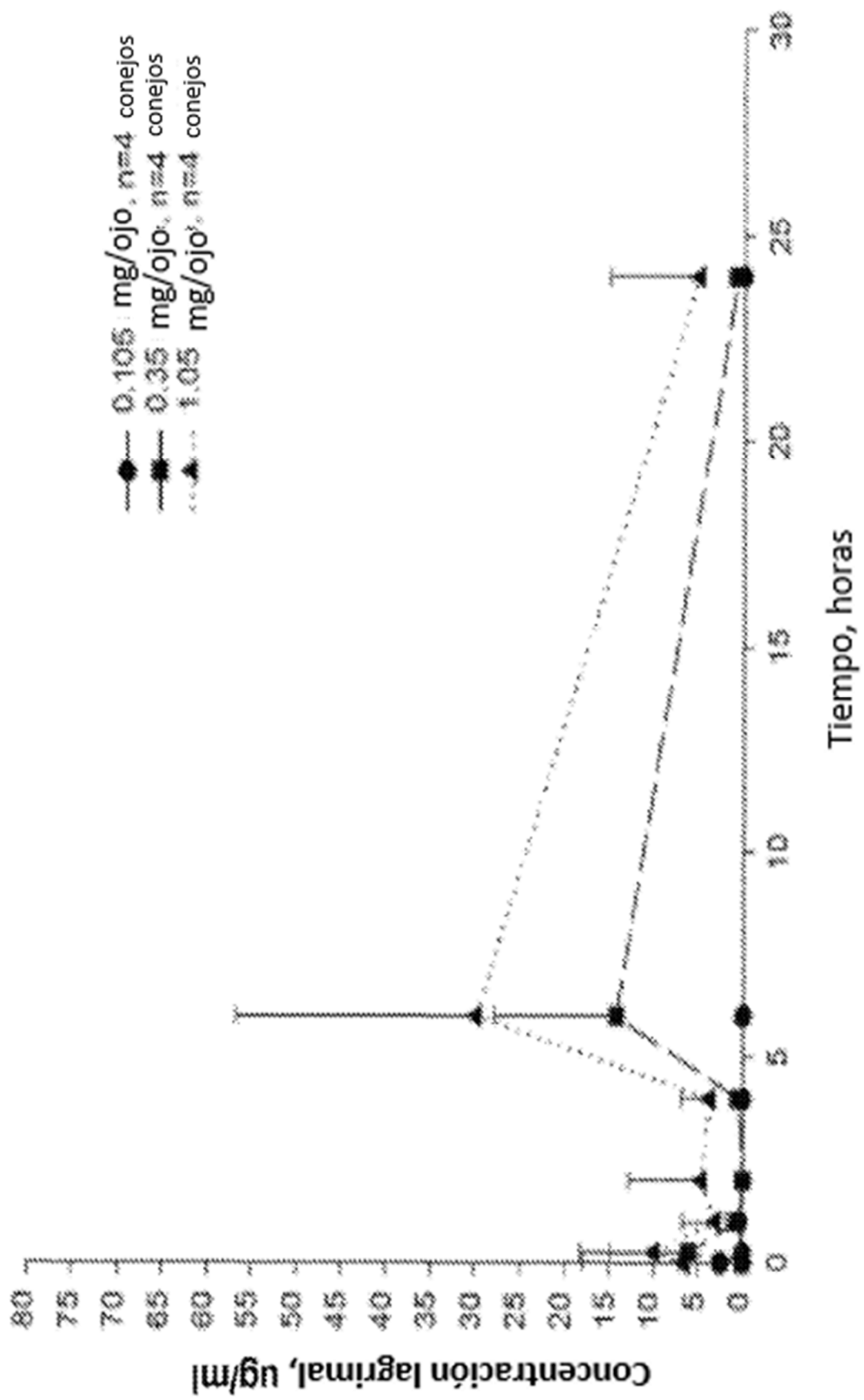


FIG. 21

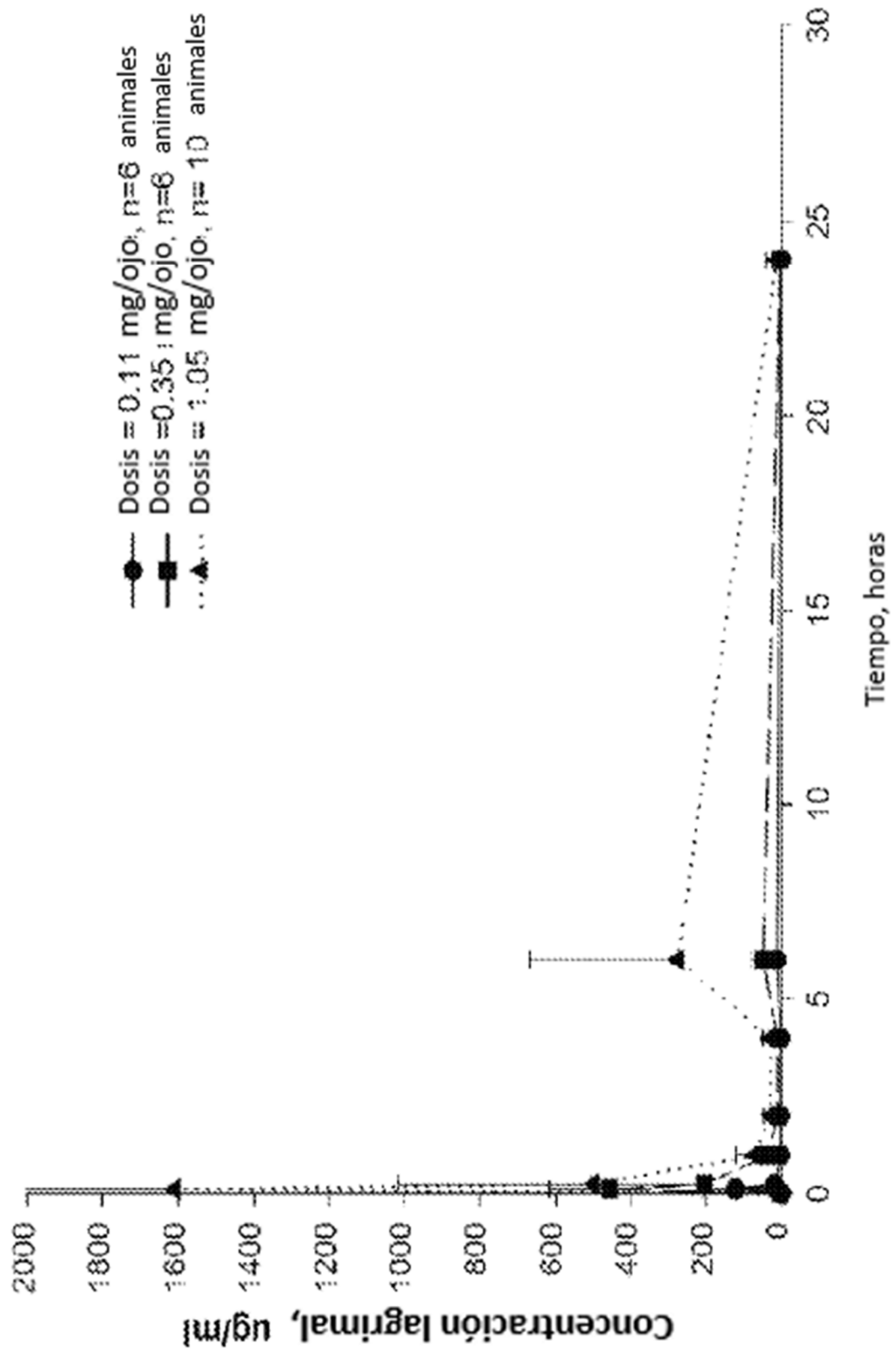


FIG. 22
Concentraciones lagrimales del Compuesto 12 (conejos)

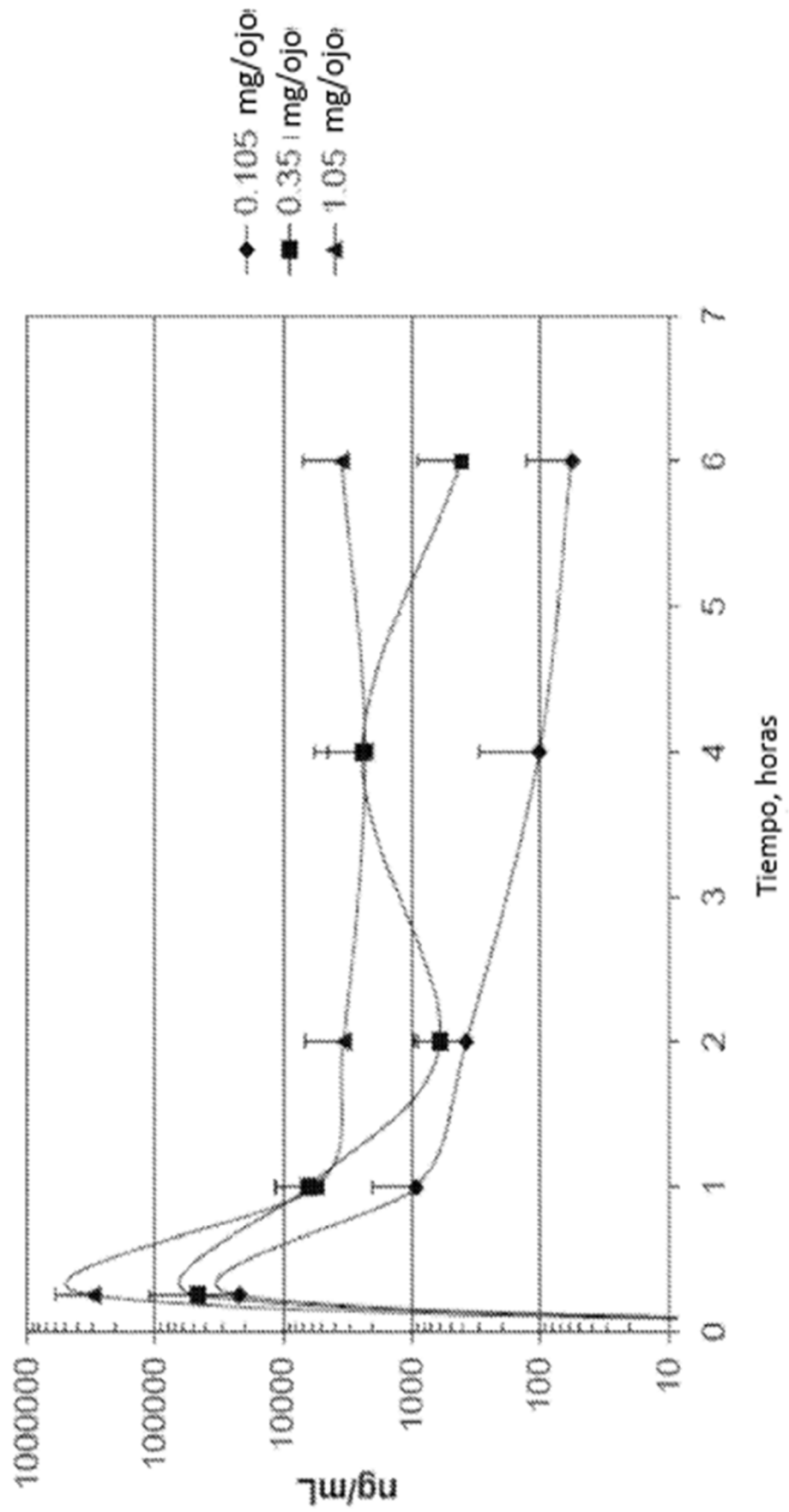


FIG. 23

Concentración plasmática del Compuesto 12

