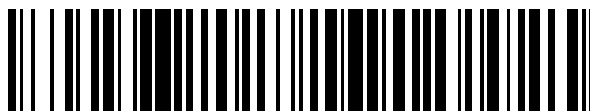


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 141**

51 Int. Cl.:

A61K 31/351 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
C07D 309/10 (2006.01)
C07D 409/10 (2006.01)
C07H 7/04 (2006.01)
C07H 15/203 (2006.01)
C07H 15/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.01.2009 E 09705558 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2015 EP 2236137**

54 Título: **Composición farmacéutica para el tratamiento de las enfermedades del hígado graso**

30 Prioridad:

31.01.2008 JP 2008020731
31.03.2008 JP 2008089638

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.07.2015

73 Titular/es:

ASTELLAS PHARMA INC. (50.0%)
5-1, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku
Tokyo 103-8411, JP y
KOTOBUKI PHARMACEUTICAL CO., LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

KUROSAKI, EIJI;
TAKASU, TOSHIYUKI;
MAEDA, NORIAKI y
YAMAZAKI, SHUNJI

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 541 141 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

Composición farmacéutica para el tratamiento de las enfermedades del hígado graso

5 **Campo técnico**

La presente invención se relaciona con una composición farmacéutica para tratar la enfermedad del hígado graso, y más particularmente se relaciona con una composición farmacéutica que contiene un derivado específico de fenilglucitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

Técnica anterior

La enfermedad del hígado graso, a la que también se denomina hígado graso, se refiere a una enfermedad que conduce a lesión hepática causada por la acumulación anormal de grasas (v.g., triglicéridos) en las células hepáticas. Se sabe que la patología en la fase inicial de la enfermedad del hígado graso es el hígado graso simple, que muestra sólo deposición de grasa en las células hepáticas, seguida de desarrollo de esteatohepatitis (incluyendo fibrosis hepática) y posterior cirrosis y/o carcinoma hepatocelular en fases más avanzadas. En general, como posibles causas de deposición de grasa en el hígado se incluyen la ingestión de alcohol, la obesidad, la diabetes, el metabolismo anormal de los lípidos, fármacos (v.g., esteroides, tetraciclinas), el síndrome de Cushing, el envenenamiento (v.g., con fósforo blanco), trastornos nutricionales serios, etc. Se clasifican las causas de la enfermedad del hígado graso en dos tipos principales, es decir, alcohólicas y no alcohólicas, y se hace referencia a la enfermedad hepática causada por las primeras como enfermedad hepática alcohólica (también llamada lesión hepática alcohólica), mientras que se hace referencia a la enfermedad hepática causada por las segundas como enfermedad no alcohólica del hígado graso (ENAHG). La enfermedad hepática alcohólica progresa desde el hígado graso simple en la fase inicial hasta esteatohepatitis y/o cirrosis en estadios más avanzados. Se ha considerado que la enfermedad no alcohólica del hígado graso permanece en la fase de hígado graso simple sin progresar a fase más avanzadas. En los últimos años, sin embargo, se ha visto que la patología de la enfermedad no alcohólica del hígado graso puede también progresar desde el hígado graso simple hasta esteatohepatitis y/o cirrosis. La enfermedad no alcohólica del hígado graso se define como una enfermedad con deposición de grasa en el hígado, que se produce en pacientes cuya historia de ingestión de alcohol no es lo suficientemente prolongada como para causar lesión del hígado, excepto para casos de etiología conocida, tales como hepatitis vírica y hepatitis autoinmune. La enfermedad no alcohólica del hígado graso se clasifica además en hígado graso simple, esteatohepatitis y cirrosis. Esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) se refiere a una patología asociada a inflamación, necrosis de las células hepáticas, balonización y fibrosis, de forma similar al caso de la esteatohepatitis alcohólica (EHA). La aparición del hígado graso simple no alcohólico está inducida por la deposición de grasa en las células del hígado, y esta acumulación de grasa se define por el equilibrio entre factores incrementantes (influjo y síntesis de grasas en las células hepáticas) y factores reductores (catabolismo de grasas y su liberación de las células hepáticas). Una vez producido el daño de las células hepáticas, además de esta deposición de grasa, el hígado graso simple no alcohólico progresará a esteatohepatitis no alcohólica. La esteatohepatitis no alcohólica es progresiva y puede finalmente progresar a cirrosis y carcinoma hepatocelular. Por lo tanto, se considera a la esteatohepatitis no alcohólica como un tipo serio de enfermedad no alcohólica del hígado graso. Como se ha descrito anteriormente, la enfermedad del hígado graso se separa en enfermedad hepática alcohólica y enfermedad no alcohólica del hígado graso, pero estas enfermedades tienen características histopatológicas muy similares, por ejemplo, en cada una de las condiciones de hígado graso simple, esteatohepatitis o cirrosis. Por lo tanto, se espera un mecanismo patológico común para estas enfermedades.

En el tratamiento de la enfermedad del hígado graso, es importante eliminar las causas y mejorar la acumulación de grasa en el hígado. Para el tratamiento de la enfermedad hepática alcohólica, la abstinencia del alcohol es algo imperativo, pero es difícil de conseguir. Por otro lado, la mayoría de los casos de enfermedad no alcohólica del hígado graso se asocian a resistencia a la insulina, obesidad, diabetes e hiperlipemia, como se espera de un posible mecanismo de aparición para la enfermedad no alcohólica del hígado graso. Si los pacientes tienen estas complicaciones, se requiere en primer lugar que reciban terapia para estas complicaciones. El principio terapéutico para la enfermedad no alcohólica del hígado graso es mejorar los hábitos del estilo de vida, incluyendo una terapia dietética y una terapia de ejercicio, que son, sin embargo, difíciles de conseguir de manera segura en las presentes circunstancias. En el caso de la esteatohepatitis no alcohólica, se requiere una terapia más agresiva con fármacos, ya que es altamente probable que progrese a cirrosis y/o carcinoma hepatocelular. Aunque se han intentado algunas terapias para mejorar el estrés oxidativo y/o la resistencia a la insulina, que parecen ser importantes para la aparición y la progresión de la esteatohepatitis no alcohólica, no existe ninguna terapia basada en fundamentos científicos bien establecidos en las presentes circunstancias. En Japón, se usa polienilfosfatidilcolina (EPL) como fármaco para el hígado graso simple bajo seguro médico, pero su efecto terapéutico sobre la esteatohepatitis no alcohólica no ha sido aún aclarado. Considerando lo anterior, no se ha establecido ninguna terapia que resulte suficiente para la enfermedad del hígado graso en las presentes circunstancias, y existe una demanda de desarrollo de un agente terapéutico altamente efectivo para la enfermedad del hígado graso.

En estas circunstancias, se ha publicado un documento que desvela un inhibidor contra la progresión de

enfermedades causadas por la acumulación anormal de grasa en el hígado, que tiene un inhibidor del cotransportador de sodio/glucosa (al que de aquí en adelante se hará referencia como SGLT) 2 como principio activo (Documento de patente 1). En este documento, se enumeran muchos compuestos O-glicósido como inhibidores de SGLT2, pero no se hace ninguna divulgación sobre compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Además, no existen datos reales que muestren su eficacia sobre el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica.

De igual modo, se ha publicado otro documento que desvela la terapia de combinación con un inhibidor de SGLT y un agonista PPAR (Documento de patente 2). Este documento desvela que T-1095, que se conoce como inhibidor de SGLT, reducía los niveles de triglicéridos en sangre en ratones db/db. Sin embargo, no se hace ninguna divulgación acerca de la eficacia sobre el tratamiento de la enfermedad del hígado graso.

Entre los compuestos de fórmula (I), un compuesto en el que R³ es azulén-2-ilo, es decir, (1S)-1,5-anhidro-1-[5-(azulén-2-ilmetil)-2-hidroxifenil]-D-glucitol, muestra actividad inhibitoria de SGLT y un efecto hipoglucémico, y se desvela que es útil como agente terapéutico para diversas enfermedades relacionadas con la diabetes (Documento de patente 3). También se desvela que su sal de colina tiene propiedades preferidas como sustancia farmacológica farmacéutica (Documento de patente 4). Sin embargo, no se hace ninguna divulgación acerca de la eficacia sobre el tratamiento de la enfermedad del hígado graso.

Entre los compuestos de fórmula (I), un compuesto en el que R³ es 1-benzotiofen-2-ilo, es decir, (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol, muestra actividad inhibitoria de SGLT y un efecto hipoglucémico, y se desvela que es útil como agente terapéutico para diversas enfermedades relacionadas con la diabetes (Documentos de patente 5 y 6). También se desvela que su forma libre y su cocrystal con L-prolina (a una razón molar de 1:1) tienen propiedades preferidas como sustancias farmacológicas farmacéuticas (Documento de patente 7). Sin embargo, no se hace ninguna divulgación acerca de la eficacia sobre el tratamiento de la enfermedad del hígado graso.

Entre los compuestos de fórmula (I), se desvela que un compuesto en el que R³ es 4-etoxifenilo, es decir, (1S)-1,5-anhidro-1-[4-cloro-3-(4-etoxibencil)fenil]-D-glucitol, es utilizable como inhibidor de SGLT para el tratamiento de la obesidad y de la diabetes de tipo 2 (Documento de patente 8). Además, también se describen su cocrystal con prolina y su hidrato de propilenglicol (Documento de patente 9). Sin embargo, no se hace ninguna divulgación acerca de la eficacia sobre el tratamiento de la enfermedad del hígado graso.

Documento de patente 1: Publicación Internacional N° WO06/009149
Documento de patente 2: Publicación Internacional N° WO02/080936
Documento de patente 3: Publicación Internacional N° WO04/013118
Documento de patente 4: Publicación Internacional N° WO07/007628
Documento de patente 5: Publicación Internacional N° WO04/080990
Documento de patente 6: Publicación Internacional N° WO05/012326
Documento de patente 7: Publicación Internacional N° WO07/114475
Documento de patente 8: Publicación Internacional N° WO03/099836
Documento de patente 9: Publicación Internacional N° WO08/002824

Divulgación de la invención

La presente invención proporciona (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un método de tratamiento de la enfermedad del hígado graso, tal como la enfermedad no alcohólica del hígado graso, el hígado graso simple no alcohólico o la esteatohepatitis no alcohólica.

Como resultado de estudios amplios e intensivos sobre fármacos para mejorar la enfermedad del hígado graso, los inventores de la presente invención han visto que el (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tiene un efecto mejorador sobre la acumulación anormal de triglicéridos en el hígado y ejerce un excelente efecto terapéutico sobre la enfermedad del hígado graso. Este descubrimiento condujo a la compleción de la presente invención.

A saber, la presente invención proporciona lo siguiente.

[1] El compuesto (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un método de tratamiento de la enfermedad del hígado graso.

[2] El compuesto para uso según [1], donde el (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o su sal farmacéuticamente aceptable es (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol.

[3] El compuesto para uso según [2], donde el (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol es un cocrystal de razón molar 1:1 de (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol y L-prolina.

- 5 [4] El compuesto para uso según cualquiera de [1] a [3], donde la enfermedad del hígado graso es enfermedad no alcohólica del hígado graso, hígado graso simple no alcohólico o esteatohepatitis no alcohólica.

Breve descripción de los dibujos

- 10 La Figura 1 muestra los resultados evaluados para la patología de infiltración por células inflamatorias (en ratas alimentadas con dieta MCD). El valor medio para cada grupo evaluado está indicado mediante una línea horizontal (-) en la figura. Hay que señalar que un asterisco (*) en la figura indica significación estadística sobre el segundo grupo.
- 15 La Figura 2 muestra los resultados evaluados para la patología de fibrosis hepática (en ratas alimentadas con dieta MCD). El valor medio para cada grupo evaluado está indicado mediante una línea horizontal (-) en la figura. Hay que señalar que un asterisco (*) en la figura indica significación estadística sobre el segundo grupo.
- 20 La Figura 3 muestra los resultados evaluados para la patología de fibrosis hepática (en ratas alimentadas con dieta CDAA). El valor medio para cada grupo evaluado está indicado mediante una línea horizontal (-) en la figura. Hay que señalar que un asterisco (*) en la figura indica significación estadística sobre el segundo grupo.

Mejor modo de realización de la invención

La presente invención será descrita con más detalle a continuación.

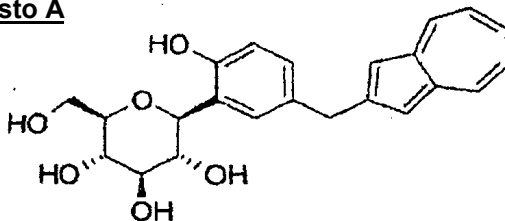
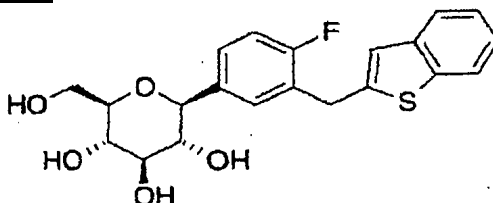
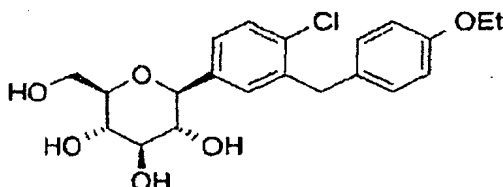
- 25 Tal como se usa aquí, el término "enfermedad del hígado graso", a la que también se denomina hígado graso, pretende significar una enfermedad que da lugar a lesión hepática causada por una acumulación anormal de grasa en las células hepáticas, como se describe en la sección de la Técnica anterior. Además, la enfermedad del hígado graso puede ser clasificada en enfermedad hepática alcohólica y enfermedad del hígado graso no alcohólica. A continuación se resumen enfermedades que entran dentro del alcance de la enfermedad del hígado graso en el
- 30 contexto de la presente invención.

Como enfermedades que entran dentro del alcance de la enfermedad del hígado graso, se incluyen:

- 35 (1) Enfermedad hepática alcohólica (también llamada lesión hepática alcohólica): una enfermedad causada por acumulación de grasa en las células hepáticas como resultado de la ingestión de alcohol. Como ejemplos, se incluyen enfermedades tales como el hígado graso simple alcohólico, la esteatohepatitis alcohólica (EHA), la fibrosis hepática alcohólica, la cirrosis hepática, etc. Hay que señalar que la esteatohepatitis alcohólica también se denomina hepatitis grasa alcohólica e incluye la fibrosis hepática alcohólica.
- 40 (2) Enfermedad no alcohólica del hígado graso: una enfermedad con deposición de grasa en el hígado, que se produce en pacientes cuya ingestión de alcohol no es suficiente como para causar lesión hepática, excepto en casos de etiología conocida, tales como la hepatitis vírica y la hepatitis autoinmune. Como ejemplos, se incluyen enfermedades tales como el hígado graso simple no alcohólico, la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), la fibrosis hepática no alcohólica, la cirrosis no alcohólica, etc.
- 45 (2-1) Hígado graso simple no alcohólico: una enfermedad sólo con deposición de grasa en las células hepáticas.
- (2-2) Esteatohepatitis no alcohólica (EHNA): una enfermedad con cambio de grasa en el hígado, junto con inflamación, necrosis de las células hepáticas, balonización y fibrosis, de forma similar al caso de la esteatohepatitis alcohólica, y que también incluye la fibrosis hepática no alcohólica.
- (2-2-1) Fibrosis hepática no alcohólica: una enfermedad con fibrosis avanzada en los tejidos hepáticos, junto con una excesiva producción y acumulación de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular.
- 50 (2-3) Cirrosis no alcohólica: una enfermedad con estructura reconstruida de los lóbulos hepáticos como resultado de una fibrosis avanzada.

- Se puede obtener fácilmente el (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol (al que de aquí en adelante se hará también referencia como Compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por ejemplo, como se describe en el Documento de patente 5 (*supra*) o de un modo que resulte obvio para los expertos en la técnica o según métodos modificados del mismo.
- 55

A continuación, se muestran las fórmulas estructurales de los Compuestos A, B y C.

Compuesto A**Compuesto B****Compuesto C**

5

(donde Et representa un grupo etilo).

Tal como se usa aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" pretende significar una sal de adición de ácido o una sal con una base, por ejemplo como se describe en el Documento de patente 3 ó 5 (*supra*). Como ejemplos específicos, se incluyen sales de adición de ácido con ácidos minerales (v.g., ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico), ácidos orgánicos (v.g., ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico) o aminoácidos ácidos (v.g., ácido aspártico, ácido glutámico); sales con bases inorgánicas (v.g., sodio, potasio, magnesio, calcio, aluminio), bases orgánicas (v.g., metilamina, etilamina, etanolamina) o aminoácidos básicos (v.g., lisina, ornitina); y también sales de amonio, etc.

Además, el compuesto puede estar presente en cualquier forma, es decir, diversos hidratos, solvatos, sustancias polimórficas cristalinas o cocristales. Con respecto a "(1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo", una realización preferida es un cocrystal de (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol y L-prolina (en una razón molar de 1:1), como se describe en el Documento de patente 7 (*supra*).

Además, también se desvelan profármacos farmacéuticamente aceptables del compuesto. El término "profármaco farmacéuticamente aceptable" se refiere a un compuesto que tiene un grupo que puede convertirse en un grupo hidroxilo o similar por solvolisis o en condiciones fisiológicas. Como ejemplos de un grupo formador de profármaco, se incluyen los descritos en Prog. Med., 5, 2157-2161 (1985) o los descritos en "Development of Pharmaceuticals" (Hirokawa Publishing, 1990), vol. 7, Molecular Design 163-198.

Se puede preparar una preparación farmacéutica de un modo convencional usando el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un soporte farmacéutico, un excipiente farmacéutico u otros aditivos habitualmente utilizados con fines de formulación. Se puede emplear cualquier modo de administración, ya sea administración oral en forma de dosificación de tabletas, píldoras, cápsulas, gránulos, polvos, soluciones o similares, o administración parenteral en forma de dosificación de inyecciones (v.g., inyecciones intravenosas o intramusculares) o supositorios, o por vía transnasal, transmucosal, percutánea u otra.

Las composiciones sólidas usadas para administración oral según la presente invención incluyen tabletas, polvos, gránulos, etc. En estas composiciones sólidas, se mezcla el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un diluyente inerte, por ejemplo, lactosa, manitol, glucosa, hidroxipropilcelulosa, celulosa microcristalina, almidón, polivinilpirrolidona, aluminometasilicato de magnesio o similar. Las composiciones pueden

también incluir aditivos además del/de los diluyente(s) inerte(s), por ejemplo lubricantes (v.g., estearato de magnesio), desintegrantes (v.g., carboximetilcelulosa calcio), estabilizadores, solubilizadores, etc., como en los casos habituales. Las tabletas o las píldoras pueden estar eventualmente recubiertas con un revestimiento de azúcar o una película gástrica o entérica, por ejemplo con sacarosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa o similar.

Las composiciones líquidas para administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, elixires, etc. farmacéuticamente aceptables, e incluyen diluyentes inertes habitualmente utilizados, tales como agua purificada o etanol. Estas composiciones pueden incluir, además de los diluyentes inertes, agentes auxiliares (v.g., agentes humectantes, agentes suspensores), edulcorantes, saborizantes, aromáticos y/o antisépticos.

Las inyecciones para administración parenteral comprenden soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Como ejemplos de soluciones o suspensiones acuosas, se incluyen agua destilada y suero fisiológico inyectable. Como ejemplos de soluciones o suspensiones no acuosas, se incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales (v.g., aceite de oliva), alcoholes (v.g., EtOH), Polisorbato 80, etc. Estas composiciones pueden además incluir agentes auxiliares, tales como antisépticos, agentes humectantes, emulsionantes, dispersantes, estabilizadores y/o solubilizadores. Se esterilizan, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias, por incorporación con desinfectantes o por irradiación. De manera alternativa, se pueden formular en composiciones sólidas estériles y reconstituir para su uso disolviéndolas en agua estéril o en un solvente inyectable estéril antes de su utilización.

Las formulaciones para uso externo incluyen ungüentos, emplastos, cremas, gelatinas, cataplasmas, sprays, lociones, colirios, ungüentos oculares, etc. Comprenden bases de ungüento, bases de loción, soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas o similares de uso común. Como ejemplos de bases de ungüento o de loción, se incluyen polietilenglicol, propilenglicol, vaselina blanca, cera de abejas blanca, aceite de ricino hidrogenado polioxietilenado, monoestearato de glicerina, alcohol estearílico, alcohol cetílico, lauromacrogol, sesquioleato de sorbitán, etc.

Las formulaciones transmucosales, tales como inhalatorios o formulaciones transnasales, son usadas en forma sólida, líquida o semisólida y pueden ser preparadas de una forma convencionalmente conocida. Por ejemplo, dichas formulaciones pueden ser suplementadas según sea apropiado con excipientes conocidos y además con ajustadores del pH, antisépticos, surfactantes, lubricantes, estabilizadores, espesantes, etc. Para su administración, se puede usar un dispositivo apropiado para inhalación o insuflación. Por ejemplo, usando un dispositivo conocido (v.g., un dispositivo de inhalación de dosis calibrada) o un nebulizador, se puede administrar cada compuesto solo o como un polvo de una mezcla formulada o como una solución o suspensión en combinación con un soporte farmacéuticamente aceptable. Los inhaladores de polvo seco o similares pueden ser para uso en administración única o múltiple, y se pueden usar polvos secos o cápsulas que contienen polvo en tales dispositivos. De manera alternativa, pueden estar en forma de sprays aerosol presurizados que usan un propulsor apropiado, por ejemplo, un gas preferido, tal como clorofluoroalcano, hidrofluoroalcano o dióxido de carbono.

En general, para la administración oral, la dosificación diaria es deseablemente de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg, preferiblemente de 0,1 a 30 mg/kg y más preferiblemente de 0,1 a 10 mg/kg, de peso corporal, dados como una sola dosis o en 2 a 4 dosis divididas. Para la administración intravenosa, la dosificación diaria es deseablemente de aproximadamente 0,0001 a 10 mg/kg de peso corporal, dados en una o varias dosis al día. De igual modo, para formulaciones transmucosales, la dosificación diaria es de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal, dados en una o varias dosis al día. Se puede determinar la dosificación según sea apropiado para cada caso considerando los síntomas, la edad, el sexo, etc.

Hay que señalar que se puede usar una preparación farmacéutica basada en el compuesto de la presente invención en combinación con otros fármacos utilizados para el tratamiento de la enfermedad del hígado graso. Por ejemplo, como fármacos que pueden ser utilizados en combinación con esta preparación farmacéutica, se incluyen biguanidas (v.g., metformina), derivados de tiazolidina (v.g., clorhidrato de pioglitazona), inhibidores de la α -glucosidasa (v.g., voglibosa), secretagogos de insulina (v.g., nateglinida), vitaminas, ácido eicosapentaenoico (EPA), betaína, N-acetilcisteína (NAC), fármacos fibrato (v.g., bezafibrato), inhibidores de la HMG-CoA reductasa (v.g., atorvastatina), probucol, ácido ursodesoxicólico (UDCA), taurina, neo-minofagén C más fuerte, polienofosfatidilcolina, antagonistas de los receptores de angiotensina II (v.g., losartán) o bofutsushosan (medicina herbaria oriental), etc. En dicho uso combinatorio, los fármacos pueden ser administrados simultáneamente o por separado sucesivamente o a intervalos de tiempo deseados. Las formulaciones para administración simultánea pueden estar en forma mixta o independiente.

Ejemplos**Ejemplo 1 + (referencia):**

5 Efecto sobre el modelo del hígado graso simple no alcohólico (ratones KK-A^y) (1)

<Método de ensayo>

10 Se usaron ratones KK-A^y (hembras, compradas a CLEA Japan, Inc.). Se alimentó a los ratones con CMF (para cría especial, comprado a Oriental Yeast Co., Ltd., Japón) *ad libitum*. A las 14 semanas de edad, se midieron el peso corporal, los niveles de glucosa en sangre, los niveles plasmáticos de insulina, los niveles plasmáticos de triglicéridos y la alanina aminotransferasa (ALT) plasmática, y se dividió luego a los animales en dos grupos de tal forma que estos parámetros fuesen iguales entre los grupos (8 animales por grupo). Se administró al primer grupo

15 vehículo (metilcelulosa al 0,5%) a una dosis de 10 ml/kg, y se administró al segundo grupo una sal de colina de (1S)-1,5-anhidro-1-[5-(azulen-2-ilmetil)-2-hidroxifenil]-D-glucitol (es decir, una sal de colina del Compuesto A) a una dosis de 3 mg/kg (calculada como Compuesto A), administrando cada uno por vía oral una vez al día durante 2 semanas. El día siguiente a la administración final, se recogió el hígado de cada ratón bajo anestesia con éter, se congeló en nitrógeno líquido y se guardó después a -80°C.

20 Se midió el contenido en triglicéridos del hígado de la siguiente forma.

1. Se tomó una porción (de 50 a 150 mg) de cada hígado congelado y guardado a -80°C en un tubo Assist.
2. Después de añadir metanol (2 ml), se homogeneizó la muestra de hígado con un POLYTRON (KINEMATICA).
- 25 3. Se añadió al homogenado cloroformo (4 ml) y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 10 minutos.
4. Se añadió además agua Milli-Q (1 ml) y se agitó vigorosamente.
5. Se centrifugó la muestra en una centrifuga a baja velocidad (Hitachi, Ltd., Japón) (2.500 rpm, 5 min, temperatura ambiente).
- 30 6. Se tomó una porción de la capa inferior (volumen total: 4,5 ml) en un tubo Eppendorf y se evaporó en un evaporador centrífugo (Sakuma Seisakusho, Japón) para eliminar el solvente.
7. Se disolvió de nuevo el residuo del tubo Eppendorf por adición de etanol (10 µl).
8. Se añadió reactivo E-Test Wako para triglicéridos (1 ml, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japón) a la solución resultante y se cuantificaron los triglicéridos.
- 35 9. A partir del resultado obtenido anteriormente, se calculó el contenido en triglicéridos por g de hígado para cada muestra. Se expresaron los datos como media ± error estándar.

<Resultados>

40 Los resultados obtenidos son como se muestra en la Tabla 1. En comparación con ratones normales cuyo contenido en triglicéridos en el hígado es de 5 a 10 (mg/g de hígado), los ratones KK-A^y tienen un mayor contenido en triglicéridos en el hígado y se puede diagnosticar que tienen hígado graso. Tras la administración de Compuesto A, el contenido en triglicéridos en el hígado en ratones KK-A^y mejoró significativamente.

45 Este resultado indica que el Compuesto A es útil como agente terapéutico para el hígado graso simple no alcohólico.

[Tabla 1]

Grupo	Fármaco de ensayo	Contenido en triglicéridos del hígado (mg/g de hígado)
Primer grupo	Vehículo	60,0 ± 8,4
Segundo grupo	Compuesto A 3 mg/kg	30,7 ± 5,4*

* Indica significación estadística sobre el primer grupo.

Ejemplo 2:

50 Efecto sobre el modelo de hígado graso simple no alcohólico (ratones KK-A^y) (2)

<Método de ensayo>

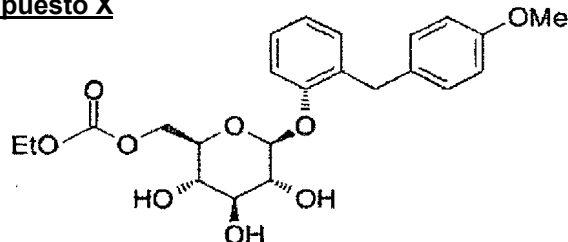
55 Se realizó la prueba del mismo modo que como se ha mostrado en el Ejemplo 1, excepto por el hecho de que se llevó a cabo esta prueba con 3 grupos de 8 animales y de que se administró al primer grupo vehículo (metilcelulosa al 0,5%) a una dosis de 10 ml/kg, se administró al segundo grupo un cocrystal (razón molar 1:1) de (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol (Compuesto B) y L-prolina a una dosis de 3 mg/kg (calculada como Compuesto B) y se administró al tercer grupo un compuesto de control, 2-(4-metoxibencil)fenilo 6-O-etoxicarbonil-β-D-glucopiranosido (al que de aquí en adelante se hará también referencia como Compuesto X, cuya

60

fórmula estructural es mostrada a continuación) desvelado en el Documento de patente 1 (*supra*) a una dosis de 36 mg/kg, siendo cada uno oralmente administrado una vez al día durante 2 semanas. Se midió luego el contenido en triglicéridos del hígado para cada grupo del mismo modo que como se ha mostrado en el Ejemplo 1.

[Fórmula 5]

Compuesto X



(donde Me representa un grupo metilo y Et representa un grupo etilo).

<Resultados>

Los resultados obtenidos son como se muestra en la Tabla 2. Aunque los ratones KK-A^y tenían hígado graso, como en el caso del Ejemplo 1, su contenido hepático en triglicéridos estaba significativamente mejorado tras la administración de Compuesto B. Este resultado indica que el Compuesto B es útil como agente terapéutico para el hígado graso simple no alcohólico.

Por el contrario, el Compuesto X no mostraba un efecto significativo a pesar de ser administrado a una dosis 10 veces superior o más a la del Compuesto B.

[Tabla 2]

Grupo	Fármaco de ensayo	Contenido en triglicéridos del hígado (mg/g de hígado)
Primer grupo	Vehículo	52,8 ± 4,9
Segundo grupo	Compuesto B 3 mg/kg	34,8 ± 1,9*
Tercer grupo	Compuesto X 36 mg/kg	57,9 ± 4,5

* Indica significación estadística sobre el primer grupo.

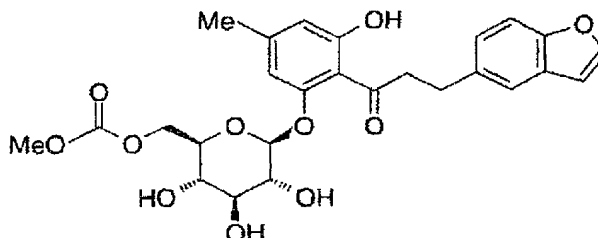
Ejemplo 3:

Efecto sobre el modelo del hígado graso simple no alcohólico (ratones KK-A^y) (3)

<Método de ensayo>

Se realizó la prueba del mismo modo que como se ha mostrado en el Ejemplo 1, excepto por el hecho de que se llevó a cabo esta prueba con 3 grupos de 8 animales y de que se administró al primer grupo vehículo (metilcelulosa al 0,5%) a una dosis de 10 ml/kg, se administró al segundo grupo un cocristal (razón molar 1:1) de (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol (Compuesto B) y L-prolina a una dosis de 3 mg/kg (calculada como Compuesto B) y se administró al tercer grupo un compuesto de control, T-1095, desvelado en el Documento de patente 2 (*supra*), es decir, 3-(benzo[b]furan-5-il)-2',6'-dihidroxi-4'-metilpropiofenona 2'-O-(6-O-metoxycarbonil)-β-D-glucopiranosido (al que de aquí en adelante se hará también referencia como Compuesto Y, cuya fórmula estructural es mostrada a continuación) a una dosis de 34 mg/kg, siendo cada uno administrado oralmente una vez al día durante 2 semanas. Se midió luego el contenido en triglicéridos del hígado para cada grupo del mismo modo que como se ha mostrado en el Ejemplo 1.

[Fórmula 6]

Compuesto Y

(donde Me representa un grupo metilo).

5 <Resultados>

Los resultados obtenidos son como se muestra en la Tabla 3. Aunque los ratones KK-A^y tenían hígado graso, como en el caso del Ejemplo 1, su contenido hepático en triglicéridos mejoraba significativamente tras la administración de Compuesto B.

10 Por el contrario, el Compuesto Y no mostraba un efecto significativo a pesar de ser administrado a una dosis 10 veces superior o más a la del Compuesto B.

[Tabla 3]

Grupo	Fármaco de ensayo	Contenido en triglicéridos del hígado (mg/g de hígado)
Primer grupo	Vehículo	59,7 ± 6,2
Segundo grupo	Compuesto B 3 mg/kg	41,2 ± 5,1*
Tercer grupo	Compuesto Y 34 mg/kg	59,7 ± 8,9
* Indica significación estadística sobre el primer grupo.		

Ejemplo 4:

20 Efecto sobre el modelo de esteatohepatitis no alcohólica (ratas alimentadas con una dieta deficiente en metionina/colina (dieta MCD)) (1)

<Método de ensayo>

25 Se realizó esta prueba en relación a un documento (J Hepatol., 2003, 39, 756-764). Se usaron ratas Wistar (machos, comprados a Charles River Japan, Inc.). Se alimentó a las ratas con dieta MCD (dieta deficiente en metionina/colina, MP Biochemicals) o con una dieta normal de control (dieta de control con metionina/colina, MP Biochemicals) *ad libitum*. A las 9 semanas de edad, se midió su peso corporal y se las dividió en grupos de igual peso corporal, seguido de iniciación de la prueba (10 animales por grupo). Se alimentó al primer grupo con dieta normal de control y se le administró vehículo (metilcelulosa al 0,5%) a una dosis de 5 ml/kg. Se alimentó al segundo y tercer grupos con dieta MCD, y se administró al segundo grupo vehículo (metilcelulosa al 0,5%) a una dosis de 5 ml/kg, mientras que se administró al tercer grupo un cocristal (razón molar 1:1) de Compuesto B y L-prolina a una dosis de 3 mg/kg (calculada como Compuesto B). Se administró cada fármaco oralmente una vez al día durante 16 semanas. El día siguiente a la administración final, se recogió el hígado de cada rata bajo anestesia con éter y se fijó una porción del hígado en formalina tamponada neutra al 10%. Se prepararon secciones de parafina (3 µm) de un modo estándar y se sometieron a tinción de HE y tinción de van Gieson. Se usaron los especímenes teñidos con HE para la evaluación de las lesiones inflamatorias, mientras que se usaron los especímenes teñidos con van Gieson para la evaluación de la fibrosis. Se hizo la evaluación en relación a la puntuación de la actividad NASH (NAS) para lesiones inflamatorias y a la clasificación de Brunt para la fibrosis (Clinical Practice Guidelines for NASH/NAFLD, editado por la Japan Society of Hepatology, 2006), en base a una escala de cinco puntos de 0, 1, 2, 3 y 4 (véase la Tabla 4). En la Tabla 4, hay que señalar que el campo visual a "200 aumentos" corresponde a 1/4 del área del campo visual a "100 aumentos".

[Tabla 4]

Evaluación (puntuación)	Lesión inflamatoria	Fibrosis
0	Ninguna	Ninguna
1	1 lesión a 100 aumentos	Limitada a alrededor de las venas centrales
2	De 2 a 4 lesiones a 100 aumentos	También se encuentra alrededor de las cápsulas de Glisson
3	De 2 a 4 lesiones a 200 aumentos	Asociada a fibrosis formadora de puentes
4	5 o más lesiones a 200 aumentos	Transformación nodular

<Resultados>

5 Los resultados obtenidos son como se muestra en las Figuras 1 y 2. Las ratas alimentadas con la dieta MCD mostraron aumentos significativos en las puntuaciones patológicas de infiltración de células inflamatorias y fibrosis hepática con respecto a las ratas alimentadas con la dieta normal de control, lo que indica que presentaban la afección de esteatohepatitis no alcohólica. Tras la administración de Compuesto B, las puntuaciones patológicas de infiltración de células inflamatorias y fibrosis hepática en este modelo mejoraron significativamente. Este resultado indica que el Compuesto B es útil como agente terapéutico para la esteatohepatitis no alcohólica.

Ejemplo 5:

15 Efecto sobre el modelo de esteatohepatitis no alcohólica (ratas alimentadas con una dieta de L-aminoácidos definidos deficiente en colina (dieta CDAA)) (1)

<Método de ensayo>

20 Se realizó esta prueba en relación a un documento (Biochem Biophys Res Commun., 2004, 315(1), 187-195). Se usaron ratas Wistar (machos, comprados a Charles River Japan, Inc.). Se alimentó a las ratas con una dieta CDAA (dieta de L-aminoácidos definidos deficiente en colina (Choline Deficient and Iron Supplemented L-Amino Acid Defined Rat Diet, Dyets)) o con una dieta normal de control (Choline and Iron Supplemented L-Amino Acid Defined Rat Diet, Dyets) *ad libitum*. A las 9 semanas de edad, se midió su peso corporal y se las dividió en grupos de igual peso corporal, seguido de iniciación de la prueba (10 animales por grupo). Se alimentó al primer grupo con dieta normal de control y se le administró vehículo (metilcelulosa al 0,5%) a una dosis de 5 ml/kg. Se alimentó al segundo y tercer grupos con dieta CDAA, y se administró al segundo grupo vehículo (metilcelulosa al 0,5%) a una dosis de 5 ml/kg, mientras que se administró al tercer grupo un cocristal (razón molar 1:1) de Compuesto B y L-prolina a una dosis de 3 mg/kg (calculada como Compuesto B). Se administró cada fármaco oralmente una vez al día durante 5 semanas. El día siguiente a la administración final, se recogió el hígado de cada rata bajo anestesia con éter. Después de fijar una porción del hígado en formalina tamponada neutra al 10%, se prepararon secciones de parafina (3 µm) de un modo estándar y se sometieron a tinción de van Gieson. Se evaluó la fibrosis en relación a la clasificación de Brunt (Clinical Practice Guidelines for NASH/NAFLD, editado por la Japan Society of Hepatology, 2006), en base a una escala de cinco puntos de 0, 1, 2, 3 y 4 (véase la Tabla 4).

<Resultados>

40 Los resultados obtenidos son como se muestra en la Figura 3. Las ratas alimentadas con dieta CDAA mostraron un significativo aumento en la puntuación patológica de fibrosis hepática con respecto a las ratas alimentadas con la dieta normal de control, lo que indica que presentaban la afección de esteatohepatitis no alcohólica. Tras la administración de Compuesto B, la puntuación patológica de fibrosis hepática en este modelo mejoró significativamente. Este resultado indica que el Compuesto B es útil como agente terapéutico para la esteatohepatitis no alcohólica.

45 Los anteriores resultados indicaban que, tras la administración del compuesto o de sus sales farmacéuticamente aceptables, la acumulación anormal de triglicéridos en el hígado (hígado graso simple) mejoraba, y además que la afección de esteatohepatitis no alcohólica (inflamación y fibrosis) causada por la acumulación anormal de triglicéridos en el hígado mejoraba también. En general, la enfermedad hepática alcohólica y la enfermedad no alcohólica del hígado graso tienen características histopatológicas muy similares en cada una de las afecciones de esteatosis simple, esteatohepatitis (incluyendo fibrosis hepática) y cirrosis en la enfermedad del hígado graso, y se espera que tendrán un mecanismo patológico común. Por lo tanto, es evidente que las composiciones farmacéuticas de la presente invención son útiles como agentes terapéuticos para la enfermedad del hígado graso. Además, se confirmó que los compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables tienen un mayor efecto mejorador sobre la acumulación anormal de triglicéridos en el hígado que los compuestos (Compuesto X y Compuesto Y) desvelados en los Documentos de patente 1 y 2 (*supra*). Este resultado sugiere que también se puede esperar que los compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables tendrán un efecto superior sobre la esteatohepatitis no alcohólica al de los compuestos (Compuesto X y Compuesto Y) desvelados en los Documentos de patente 1 y 2 (*supra*).

Aplicabilidad industrial

- 5 El (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tiene un efecto mejorador sobre la acumulación anormal de triglicéridos en el hígado y se puede usar como una composición farmacéutica para tratar la enfermedad del hígado graso, tal como la enfermedad no alcohólica del hígado graso en una realización o el hígado graso simple no alcohólico y/o la esteatohepatitis no alcohólica en otra realización.

REIVINDICACIONES

1. El compuesto (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un método de tratamiento de la enfermedad del hígado graso.
- 5 2. El compuesto para uso según la reivindicación 1, donde el (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol o su sal farmacéuticamente aceptable es (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol.
- 10 3. El compuesto para uso según la reivindicación 2, donde (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol es un cocristal en una razón molar 1:1 de (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotiofen-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitol y L-prolina.
- 15 4. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la enfermedad del hígado graso es una enfermedad no alcohólica del hígado graso, hígado graso simple no alcohólico o esteatohepatitis no alcohólica.

Figura 1

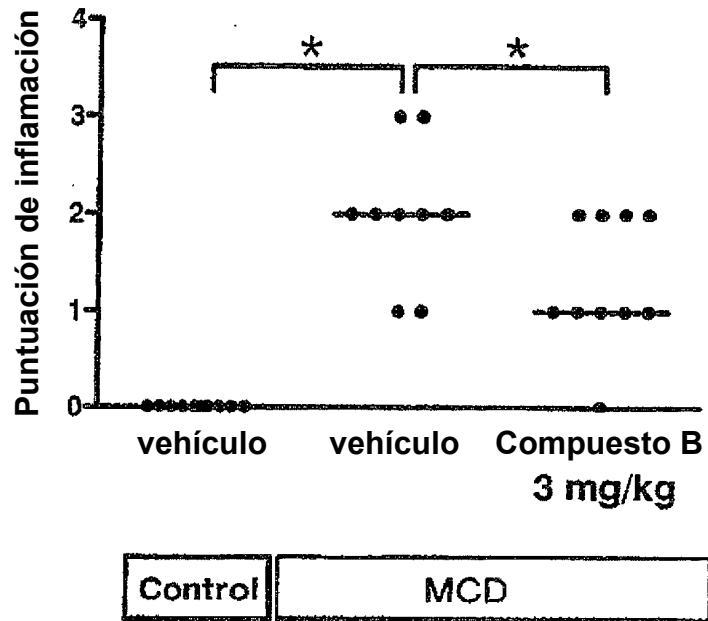


Figura 2

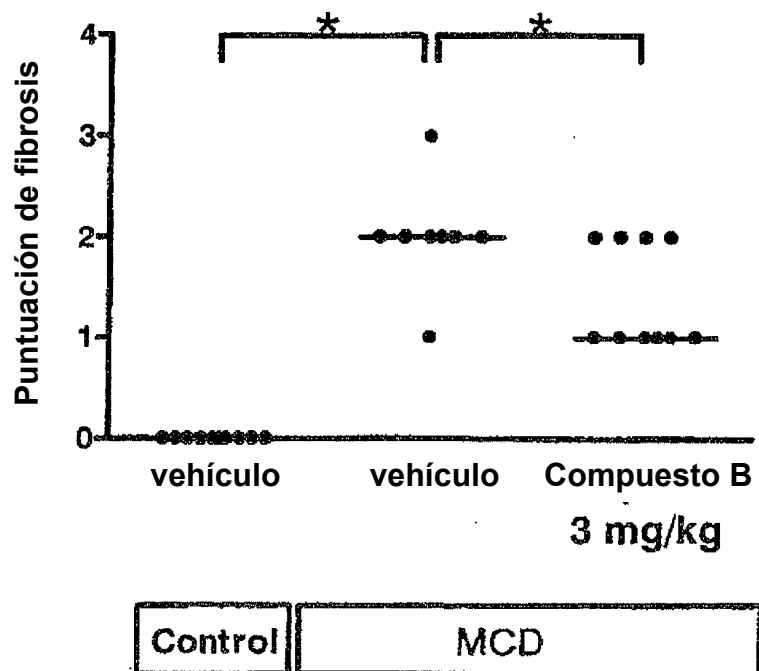


Figura 3