



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 363 334**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/56** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 1/04** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02800923 .1**

96 Fecha de presentación : **04.10.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1448205**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.08.2004**

54

Título: **Combinaciones para el tratamiento de desórdenes inmuno-inflamatorios.**

30

Prioridad: **05.10.2001 US 327674 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.08.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.08.2011**

73

Titular/es: **ZALICUS Inc.**  
**245 First Street, Third Floor**  
**Cambridge, Massachusetts 02142, US**

72

Inventor/es: **Keith, Curtis;**  
**Borisy, Alexis;**  
**Zimmermann, Grant;**  
**Jost-Price, Edward, Roydon;**  
**Manivasakam, Palaniyandi;**  
**Hurst, Nicole y**  
**Foley, Michael, A.**

74

Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 363 334 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).

## DESCRIPCION

Combinaciones para el tratamiento de desórdenes

inmuno-inflamatorios

**Campo de la Invención**

5 La invención se refiere al tratamiento de desórdenes inmuno-inflamatorios.

**Antecedentes de la Invención**

10 Los desórdenes inmuno-inflamatorios (por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, muerte celular cerebral inducida por embolia, espondilitis anquilosante, fibromialgia, y dermatosis inflamatoria, asma, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, lupus eritematoso sistémico, escleroderma, esclerosis sistémica, y síndrome de Sjögren) se caracterizan por la mala regulación del sistema inmune y la activación inapropiada de las defensas corporales, dando como resultado daños al tejido sano.

15 El uno por ciento de los seres humanos de todo el mundo están afligidos con artritis reumatoide (AR), una enfermedad progresiva implacable que causa severo hinchamiento, dolor, y la eventual deformidad y destrucción de las articulaciones. De acuerdo con la Arthritis Foundation (Fundación de Artritis), la artritis reumatoide afecta actualmente a más de dos millones de americanos, de los cuales las mujeres tienen tres veces más posibilidades de ser afligidas. La artritis reumatoide se caracteriza por inflamación del revestimiento de las articulaciones y/u otros órganos internos, y por la presencia de números elevados de linfocitos y altos niveles de citocinas pro-inflamatorias.

20 El diagnóstico de la artritis reumatoide incluye en general: (i) rigidez matutina en las articulaciones que dura cuando menos una hora antes de mejorar, (ii) artritis de tres o más áreas de la articulación que tienen simultáneamente hinchamiento del tejido blando o fluido; (iii) artritis de cuando menos una articulación de la mano; (iv) artritis simétrica, es decir, la involucración simultánea de la misma área de la articulación sobre ambos lados del cuerpo; (v) nódulos reumatoides; (vi) factor reumatoide en suero anormal; y (vii) cambios radiográficos típicos de la artritis reumatoide en las radiografías posteroanteriores de la mano y la muñeca, que incluyen erosiones o descalsificación ósea inequívoca localizada en, o más marcada adyacente a, las articulaciones involucradas. Los pacientes se clasifican por tener artritis reumatoide si han estado presentes cuando menos cuatro de estos siete criterios, (i) a (iv), durante cuando menos seis semanas. (American College of Rheumatology, 1987 Criteria for the Classification of Acute Arthritis of Rheumatoid Arthritis, basado en Arnett, F.C. y colaboradores, Arthritis Rheum. 1988; 31:315-324). No se requiere el dolor por sí mismo para el diagnóstico de artritis reumatoide.

30 El tratamiento de artritis reumatoide incluye en general estrategias anti-inflamatorias dirigidas a la supresión de las manifestaciones clínicas de inflamación de las articulaciones, incluyendo espesamiento sinovial, ablandamiento de las articulaciones, y rigidez de las articulaciones. Los fármacos utilizados para resolver estos signos y síntomas incluyen en general: (i) fármacos anti-inflamatorios no esteroidales (NSAIDs, por sus siglas en inglés; por ejemplo detoprofeno, diclofenaco, diflunisal, etodolaco, fenoprofeno, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, quetoprofeno, meclofenamato, ácido mefenámico, meloxicam, nabumetona, naproxeno-sodio, oxaprofeno, piroxicam, sulindaco, tolmetina, celecoxib, rofecoxib, aspirina, salicilato de colina, salsato, y salicilato de sodio y magnesio) -estos fármacos pueden ser adecuados para la artritis reumatoide leve, pero parecen no alterar el curso a largo plazo de la enfermedad; y (ii) esteroides (por ejemplo, cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamsinolona).

40 El tratamiento de artritis reumatoide también puede incluir estrategias dirigidas a limitar el daño a largo plazo de la articulación y la deformidad causada por la inflamación de las articulaciones. Estos tratamientos se describen en general como DMARDs (por sus siglas en inglés), es decir, fármacos anti-reumáticos modificadores de la enfermedad (por ejemplo, ciclosporina, azatioprina, metotrexato, leflunomida, ciclofosfamida, hidroxicloroquina, sulfasalacina, D-penicilamina, minociclina, oro, etanercept (receptor de TNF soluble) e infliximab (un anti-cuerpo monoclonal quimérico anti-TNF)).

Existe una necesidad de desarrollar nuevas composiciones para el tratamiento de desórdenes inmuno-inflamatorios.

**Compendio de la Invención**

45 Hemos descubierto que la combinación de dipiridamol (también conocido como 2,6-bis(dietanolamino)-4,8-dipiperidinopirimido(5,4-d) piri-midina), y corticosteroides, tales como fludrocortisona (también conocida como acetato de

9-alfa-fluoro-11-beta, 17-alfa, 21-trihidroxi-4-pregnadieno-3,20-diona) o prednisolona (también conocida como 1-deshidrocortisol; 1-deshidrohdrocortisona; 1,4-pregnadieno-11beta,17alfa,21-triol-3,20-diona; y 11beta,17alfa, 21-trihidroxi-1,4-pregnadieno-3,20-diona), provoca una supresión sustancial de los niveles de TNF $\alpha$  inducida en las células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMCs, por sus siglas en inglés).

5 De conformidad con lo anterior, la invención proporciona una composición para el tratamiento de un paciente que tenga, o que esté en riesgo de desarrollar, un desorden inmuno-inflamatorio. El método incluye administrar (i) un corticosteroide; y (ii) dipiridamol. Los dos componentes se administran cada uno en una cantidad que, al combinarse, sea suficiente para tratar o prevenir el desorden inmuno-inflamatorio.

10 El dipiridamol y el corticosteroide pueden estar presentes en composiciones farmacéuticas que contengan un vehículo, diluyente, o excipiente farmacéuticamente aceptable, y se administran en dosificaciones y frecuencias suficientes para suprimir los niveles de TNF $\alpha$  lo suficiente para producir un beneficio terapéutico al paciente. El dipiridamol y el corticosteroide se pueden administrar dentro de 14 días uno del otro (por ejemplo, dentro de 10 días, dentro de 5 días, 24 horas, o 1 hora uno del otro, o inclusive de una forma simultánea). La administración de cada compuesto puede hacerse, por ejemplo, de 1 a 5 veces al día, o como sea necesario para aliviar los síntomas.

15 De acuerdo con lo anterior, esta invención también proporciona composiciones farmacéuticas, paquetes farmacéuticos, y equipos que contengan dipiridamol y uno o más corticosteroides. Las composiciones (composiciones farmacéuticas y paquetes farmacéuticos) de la invención pueden proporcionar combinaciones de orden más alto de dipiridamol y corticosteroides. De una manera específica, se puede combinar con uno, dos, tres, o más corticosteroides. En las modalidades preferidas, el dipiridamol, el corticosteroide, o ambos, están aprobados por la United States Food and Drug Administration (USFDA, por sus siglas en inglés, Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos) para administrarse a un ser humano.

20 La invención descrita en la presente se ha ejemplificado utilizando los corticosteroides fludrocortisona (también conocida como acetato de 9-alfa-fluoro-11-beta,17-alfa,21-trihidroxi-4-pregneno-3,20-diona) y prednisolona (también conocida como 1-deshidrocortisol; 1-deshidrohdrocortisona; 1,4-pregnadieno-11beta, 17alfa, 21-triol-3,20-diona; y 11beta, 17alfa, 21-trihidroxi-1,4-pregnadieno-3,20-diona); sin embargo, un técnico en la materia reconocerá que también se pueden utilizar análogos estructurales y funcionales de estos corticosteroides en combinación con el dipiridamol en los métodos y composiciones de la presente invención. Se pueden identificar otros corticosteroides útiles basándose en las características estructurales compartidas y en el mecanismo de acción aparente entre la familia de corticosteroides.

25 El dipiridamol y el corticosteroide se pueden administrar en las mismas o en diferentes formulaciones farmacéuticas. Las composiciones o componentes farmacéuticos del paquete farmacéutico se pueden administrar por las mismas o diferentes vías, e incluyen la administración oral, rectal, intravenosa, intramuscular, sub-cutánea, intra-articular, por inhalación, tópica o transdérmica, vaginal, y oftálmica.

30 Las dosificaciones del dipiridamol y el corticosteroide se pueden determinar individualmente; sin embargo, el dipiridamol se administra normalmente a pacientes humanos en 0.5 a 800 mg/día, en 18 a 600 mg/día, o en 50 a 400 mg/día. Los corticosteroides se administran normalmente en 0.1 a 1,500 mg/día, en 0.5 a 30 mg/día, o en 0.5 a 10 mg/día. Se prefieren las dosis bajas de corticosteroides (por ejemplo, 10 mg/día o menos de prednisolona, o su equivalente). La dosificación diaria total del dipiridamol y el corticosteroide se puede administrar en una, dos, tres, cuatro, o más dosificaciones. No hay necesidad de que el dipiridamol y el corticosteroide se administren en el mismo número de dosis diarias. Además, no hay necesidad de que el dipiridamol y/o el corticosteroide se administren cada día o por la misma vía de administración. Por ejemplo, el dipiridamol se puede administrar mediante inyección intravenosa cada segundo día, y el corticosteroide se puede administrar mediante aplicación tópica dos veces al día. De conformidad con lo anterior, cuando se administran en diferentes composiciones, las formulaciones farmacéuticas, los paquetes, y los equipos se preparan en una forma y dosificación adecuadas para lograr el régimen de tratamiento deseado.

35 Las enfermedades o desórdenes tratados utilizando los métodos y composiciones de esta invención son desórdenes inmuno-inflamatorios, incluyendo, por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, colitis ulcerativa, enfermedad de Chron, muerte celular cerebral inducida por embolia, espondilitis anquilosante, fibromialgia, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, lupus eritematoso sistémico o síndrome de Sjögren.

40 Los compuestos útiles en la invención incluyen aquéllos descritos en la presente en cualquiera de sus formas farmacéuticamente aceptables, incluyendo diaestereómeros y enantiómeros, sales, solvatos, y polimorfos de los mismos, así como mezclas racémicas de los compuestos descritos en la presente.

50

"Tratar" significa administrar o prescribir una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de una enfermedad inflamatoria.

"Paciente" significa cualquier animal (por ejemplo, un ser humano).

El término "desorden inmuno-inflamatorio" abarca una variedad de condiciones, incluyendo enfermedades auto-inmunes. Los desórdenes inmuno-inflamatorios dan como resultado la destrucción del tejido sano mediante un proceso inflamatorio. Los desórdenes inmuno-inflamatorios son artritis reumatoide, psoriasis, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, muerte celular cerebral inducida por embolia, espondilitis anquilosante, fibromialgia, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, lupus eritematoso sistémico y síndrome de Sjögren.

"Corticosteroide" significa cualquier hormona esteroide que se presente naturalmente o sintética, que se pueda derivar del colesterol, y que se caracterice por un sistema de anillo de ciclopentanoperhidrofenantreno hidrogenado. Los corticosteroides que se presentan naturalmente son producidos en general por la corteza adrenal. Los corticosteroides sintéticos pueden estar halogenados. Los grupos funcionales requeridos para la actividad incluyen un doble enlace en  $\Delta^4$ , una cetona C3, y una cetona C20. Los corticosteroides pueden tener actividad de glucocorticoide y/o mineralocorticoide. En las modalidades preferidas, el corticosteroide es fludrocortisona o prednisolona.

Los corticosteroides de ejemplo incluyen algestona, 6-alfa-fluoroprednisolona, 6-alfa-metilprednisolona, 21-acetato de 6-alfa-metilprednisolona, sal sódica de 21-hemisuccinato de 6-alfa-metilprednisolona, 17-butilato de 21-acetato de 6-alfa-9-alfa-difluoroprednisolona, amcinafal, beclometasona, dipropionato de beclometasona, monohidrato de dipropionato de beclometasona, 6-beta-hidroxycortisol, betametasona, 17-valerato de betametasona, budesonida, clobetasol, propionato de clobetasol, clobetasona, clocortolona, pivalato de clocortolona, cortisona, acetato de cortisona, cortodoxona, deflazacort, 21-desoxicortisol, deprodona, descinolona, desonida, desoximetasona, dexametasona, 21-acetato de dexametasona, diclorisona, diflorasona, diacetato de diflorasona, diflucortolona, doxibetasol, fludrocortisona, flumetasona, pivalato de flumetasona, flumoxonida, flunisolida, fluocinonida, acetonida de fluocinolona, 9-fluorocortisona, fluorohidroxiandrostenediona, fluorometolona, acetato de fluorometolona, fluoximesterona, flupredideno, fluprednisolona, flurandrenolida, formocortal, halcinonida, halometasona, halopredona, hircanosida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, probutato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, 6-hidroxidexametasona, isoflupredona, acetato de isoflupredona, isoprednideno, meclorisona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, parametasona, acetato de parametasona, prednisolona, acetato de prednisolona, metasulfobenzato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutato de prednisolona, ácido libre de 21-hemisuccinato de prednisolona, 21-acetato de prednisolona, prednisolona-21(beta-D-glucuronida), prednisona, prednilideno, procinonida, tralonida, triamcinolona, acetonida de triamcinolona, 21-palmitato de acetonida de triamcinolona, diacetato de triamcinolona, hexacetona de triamcinolona, y wortmannin. Deseablemente, el corticosteroide es fludrocortisona o prednisolona.

"Una cantidad efectiva" significa la cantidad de un compuesto, en una combinación de la invención, requerida para tratar o prevenir una enfermedad inmuno-inflamatoria. La cantidad efectiva de compuestos activos utilizados para practicar la presente invención para el tratamiento terapéutico de las condiciones causadas por, o que contribuyan a, una enfermedad inflamatoria, varía dependiendo del modo de administración, la edad, el peso corporal, y la salud general del paciente. Finalmente, el médico o veterinario que atienda decidirá la cantidad y el régimen de dosificación apropiados. Esta cantidad es referida como una cantidad efectiva.

El término "cantidad supresora de citocina" significa una cantidad de la combinación que cause una reducción en la presencia *in vivo* o en el nivel de la citocina pro-inflamatoria, cuando se da a un paciente para la profilaxis o el tratamiento terapéutico de un desorden inmuno-inflamatorio que sea exacerbado o causado por una producción de citocina pro-inflamatoria excesiva o no regulada.

### **Descripción Detallada**

Hemos descubierto que la combinación de dipiridamol con un corticosteroide tiene sustancialmente una actividad supresora de TNF $\alpha$  contra los glóbulos blancos sanguíneos estimulados. Las combinaciones de dipiridamol con fludrocortisona, y de dipiridamol con prednisolona, fueron particularmente efectivas. Por consiguiente, la combinación de dipiridamol con un corticosteroide es útil para el tratamiento de desórdenes inmuno-inflamatorios.

### **Dipiridamol**

El dipiridamol (2,6-bis(dietanolamino)-4,8-dipiperi-dinopirimido(5,4-d)pirimidina) es una pirimidopirimidina tetra-sustituida que se utiliza como un inhibidor de plaquetas, por ejemplo para prevenir la formación del coágulo sanguíneo en

seguida de cirugía de válvula cardíaca, y para reducir la mortalidad asociada con los desórdenes de coagulación, incluyendo infarto de miocardio y cerebral. Normalmente, se efectúa una terapia contra la coagulación (profilaxis o tratamiento) mediante la administración de dipiridamol en de aproximadamente 75 a 200 mg dos veces al día, tres veces al día, o cuatro veces al día, ya sea solo o en combinación con aspirina.

## 5 Terapia

La terapia de combinación de acuerdo con la invención se puede llevar a cabo sola o en conjunto con otra terapia, y se puede proporcionar en el hogar, en el consultorio del médico, en una clínica, en un departamento de pacientes externos del hospital, o en un hospital. El tratamiento empieza en general en un hospital, de tal manera que el doctor pueda observar estrechamente los efectos de la terapia, y hacer cualesquiera ajustes que sean necesarios. La duración de la terapia de combinación depende del tipo de desorden inmuno-inflamatorio que se esté tratando, de la edad y condición del paciente, de la etapa y tipo de enfermedad del paciente, y de la manera en que responda el paciente al tratamiento. Adicionalmente, una persona que tenga un mayor riesgo de desarrollar un desorden inmuno-inflamatorio (por ejemplo, una persona que está genéticamente predispuesta, o que previamente tuviera un desorden inmuno-inflamatorio) puede recibir un tratamiento profiláctico para inhibir o demorar una respuesta inflamatoria.

La dosificación, frecuencia, y modo de administración de cada componente de la combinación se pueden controlar de una manera independiente. Por ejemplo, se puede administrar un compuesto oralmente tres veces al día, mientras que el segundo compuesto se puede administrar intramuscularmente una vez al día. La terapia de combinación se puede dar en ciclos de activación y desactivación que incluyan períodos de descanso, de tal manera que el cuerpo del paciente tenga oportunidad de recuperarse de cualesquiera efectos secundarios todavía imprevistos. Los compuestos también se pueden formular juntos, de tal manera que una administración suministre ambos compuestos.

## Formulación de Composiciones Farmacéuticas

La administración de cada compuesto de la combinación puede ser por cualquier medio adecuado que dé como resultado una concentración del compuesto que, combinado con el otro componente, sea anti-inflamatorio al llegar a la región objetiva. El compuesto puede estar contenido en cualquier cantidad apropiada y en cualquier sustancia portadora adecuada, y en general está presente en una cantidad del 1 al 95 por ciento en peso del peso total de la composición. La composición se puede proporcionar en una forma de dosificación que sea adecuada para la vía de administración oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular), rectal, cutánea, nasal, vaginal, de inhalante, a la piel (parche), u ocular. Por consiguiente, la composición puede estar en la forma de, por ejemplo, tabletas, cápsulas, píldoras, polvos, granulados, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles incluyendo hidrogeles, pastas, ungüentos, cremas, emplastes, drenados, dispositivos de suministro osmótico, supositorios, enemas, inyectables, implantes, rocíos, o aerosoles. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional (ver, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20<sup>a</sup> edición), A.R. Gennaro, editor, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, y Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, J. Swarbrick y J.C. Boylan, editores, 1988-1999, Marcel Dekker, New York).

Las composiciones farmacéuticas de conformidad con la invención se pueden formular para liberar el compuesto activo de una manera sustancialmente inmediata después de su administración, o en cualquier tiempo o período de tiempo previamente determinado después de su administración. Los últimos tipos de composiciones se conocen en general como formulaciones de liberación controlada, las cuales incluyen: (i) las formulaciones que crean una concentración sustancialmente constante del fármaco adentro del cuerpo durante un periodo de tiempo prolongado; (ii) las formulaciones que, después de un lapso de tiempo previamente determinado, crean una concentración sustancialmente constante del fármaco dentro del cuerpo durante un periodo de tiempo prolongado; (iii) las formulaciones que sostienen la acción del fármaco durante un periodo de tiempo previamente determinado mediante el mantenimiento de un nivel de fármaco efectivo relativamente constante en el cuerpo, con la minimización concomitante de efectos secundarios indeseables asociados con las fluctuaciones en el nivel en plasma de la sustancia de fármaco activa (patrón cinético de dientes de sierra); (iv) las formulaciones que localizan la acción del fármaco, por ejemplo, mediante la colocación espacial de una composición de liberación controlada adyacente a, o en, el tejido u órgano enfermo; y (v) las formulaciones que dirigen la acción del fármaco mediante la utilización de vehículos o derivados químicos para suministrar el fármaco a un tipo de célula objetiva particular.

La administración de los compuestos en la forma de una formulación de liberación controlada es especialmente preferida en los casos en los que el compuesto, ya sea solo o en combinación, tenga (i) un índice terapéutico estrecho (es decir, la diferencia entre la concentración en plasma que conduzca a efectos secundarios dañinos o a reacciones tóxicas, y la concentración en plasma que conduzca a un efecto terapéutico, sea pequeña; en general, el índice terapéutico, IT, se define como la proporción de la dosis letal media (LD50) a la dosis efectiva media (ED50)); (ii) una ventana de absorción estrecha en el tracto gastrointestinal; o (iii) una vida media biológica tan corta que se requiera una

dosificación frecuente durante un día para sostener el nivel en plasma en un nivel terapéutico.

Se puede buscar cualquiera de un número de estrategias con el objeto de obtener una liberación controlada en donde la velocidad de liberación sobrepase a la velocidad del metabolismo del compuesto en cuestión. En un ejemplo, se obtiene la liberación controlada mediante la selección apropiada de diferentes parámetros e ingredientes de la formulación, incluyendo, por ejemplo, diferentes tipos de composiciones y recubrimientos de liberación controlada. Por consiguiente, el fármaco se formula con excipientes apropiados en una composición farmacéutica que, después de su administración, libere el fármaco de una manera controlada. Los ejemplos incluyen composiciones de tabletas o cápsulas unitarias individuales o múltiples, soluciones de aceite, suspensiones, emulsiones, microcápsulas, microesferas, nanopartículas, parches, y liposomas.

## 10 Formas de Dosificación Sólidas para Uso Oral

Las formulaciones para uso oral incluyen tabletas que contengan a los ingredientes activos en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes o rellenos (por ejemplo, sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones incluyendo almidón de papa, carbonato de calcio, cloruro de sodio, lactosa, fosfato de calcio, sulfato de calcio, o fosfato de sodio); agentes de granulación y desintegración (por ejemplo, derivados de celulosa, incluyendo celulosa microcristalina, almidones incluyendo almidón de papa, croscarmelosa de sodio, alginatos, o ácido algínico); agentes aglutinantes (por ejemplo, sacarosa, glucosa, sorbitol, acacia, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, silicato de magnesio y aluminio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, polivinilpirrolidona, o polietilenglicol); y agentes lubricantes, derrapantes, y antiadhesivos (por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de cinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados, o talco). Otros excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser colorantes, agentes saborizantes, plastificantes, humectantes y agentes reguladores del pH.

Las tabletas pueden estar sin recubrimiento, o se pueden recubrir mediante técnicas conocidas, opcionalmente para demorar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal, y proporcionar de esta manera una acción sostenida durante un periodo más largo. El recubrimiento se puede adaptar para liberar la sustancia de fármaco activa en un patrón previamente determinado (por ejemplo, con el objeto de lograr una formulación de liberación controlada), o se puede adaptar para no liberar la sustancia de fármaco activa sino hasta después de pasar por el estómago (recubrimiento entérico). El recubrimiento puede ser un recubrimiento de azúcar, un recubrimiento de película (por ejemplo, basado en hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, copolímeros de acrilato, polietilenglicoles, y/o polivinilpirrolidona), o un recubrimiento entérico (por ejemplo, basado en copolímero de ácido metacrílico, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de acetato de polivinilo, shellac, y/o etilcelulosa). Además, se puede emplear un material de demora de tiempo tal como, por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

Las composiciones de tableta sólidas pueden incluir un recubrimiento adaptado para proteger a la composición de los cambios químicos indeseados (por ejemplo, la degradación química antes de la liberación de la sustancia de fármaco activa). El recubrimiento se puede aplicar sobre la forma de dosificación sólida de una manera similar a la descrita en *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, supra*.

Los dos fármacos se pueden mezclar entre sí en la tableta, o se pueden dividir. En un ejemplo, el primer fármaco está contenido sobre el interior de la tableta, y el segundo fármaco está sobre el exterior, de tal manera que se libera una porción sustancial del segundo fármaco antes de la liberación del primer fármaco.

Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como tabletas masticables, o como cápsulas de gelatina dura en donde se mezcle el ingrediente activo con un diluyente sólido inerte (por ejemplo, almidón de papa, lactosa, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, fosfato de calcio, o caolín), o como cápsulas de gelatina blanda en donde se mezcle el ingrediente activo con agua o con un medio de aceite, por ejemplo aceite de cacahuate, parafina líquida, o aceite de olivo. Los polvos y granulados se pueden preparar utilizando los ingredientes mencionados anteriormente para tabletas y cápsulas de una manera convencional utilizando, por ejemplo, una mezcladora, un aparato de lecho fluido, o un equipo de secado por pulverización.

## Formas de Dosificación Oral de Liberación Controlada

Las composiciones de liberación controlada para uso oral, por ejemplo, se pueden construir para liberar el fármaco activo mediante el control de la disolución y/o la difusión de la sustancia de fármaco activa.

La liberación controlada por disolución o difusión se puede lograr mediante un recubrimiento apropiado de una tableta, cápsula, gránulo, o formulación granulada de compuestos, o mediante la incorporación del compuesto en una matriz apropiada. Un recubrimiento de liberación controlada puede incluir a una o más de las sustancias de recubrimiento mencionadas anteriormente, y/o, por ejemplo, shellac, cera de abejas, glicocera, cera de ricino, cera de carnauba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, ácido di-poliláctico, butirato de acetato de celulosa, cloruro de polivinilo, acetato de polivinilo, vinilpirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metilmetacrilato, 2-hidroximetacrilato, hidrogeles de metacrilato, 1,3-butilenglicol, metacrilato de etilenglicol, y/o polietilenglicoles. En una formulación de matriz de liberación controlada, el material de la matriz también puede incluir, por ejemplo, metilcelulosa hidratada, cera de carnauba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, triestearato de glicerilo, acrilato de metilo-metacrilato de metilo, cloruro de polivinilo, polietileno, y/o fluorocarbono halogenado.

Una composición de liberación controlada que contenga uno o más compuestos de las combinaciones reivindicadas, también puede estar en la forma de una tableta o cápsula flotante (es decir, una tableta o cápsula que, después de su administración oral, flote encima del contenido gástrico durante cierto periodo de tiempo). Una formulación de tableta flotante de los compuestos se puede preparar mediante la granulación de una mezcla de los fármacos con excipientes y del 20 al 75 por ciento en peso/peso de hidrocoloides, tales como hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, o hidroxipropilmetilcelulosa. Luego se pueden comprimir los gránulos obtenidos en tabletas. Al contacto con el jugo gástrico, la tableta forma una barrera de gel sustancialmente impermeable al agua alrededor de su superficie. Esta barrera de gel toma parte en el mantenimiento de una densidad menor que uno, permitiendo de esta manera que la tableta permanezca flotante en el jugo gástrico.

#### 20 Líquidos para Administración Oral

Los polvos, polvos dispersables, o gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua, son formas de dosificación convenientes para administración oral. La formulación como una suspensión proporciona el ingrediente activo en una mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión, y uno o más conservadores. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados son, por ejemplo, fosfatidas que se presentan naturalmente (por ejemplo, lecitina o los productos de condensación de óxido de etileno con un ácido graso, un alcohol alifático de cadena larga, o un éster parcial derivado de ácidos grasos), y hexitol o un anhídrido de hexitol (por ejemplo, estearato de polioxietileno, mono-oleato de sorbitol de polioxietileno, mono-oleato de sorbitán de polioxietileno, y similares). Los agentes de suspensión adecuados son, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa y alginato de sodio.

#### 30 Composiciones Parenterales

La composición farmacéutica para utilizarse en los métodos de tratamiento según las reivindicaciones también se puede administrar parenteralmente mediante inyección, infusión, o implante (intravenosa, intramuscular, subcutánea, o similar) en formas de dosificación, formulaciones, o mediante dispositivos de suministro o implantes adecuados que contengan vehículos y adyuvantes farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales. La formulación y preparación de estas composiciones son bien conocidas por los técnicos en la materia de la formulación farmacéutica. Las formulaciones se pueden encontrar en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, *supra*.

Las composiciones para uso parenteral se pueden proporcionar en formas de dosificación unitaria (por ejemplo, en ampollitas de una sola dosis), o en frascos que contengan varias dosis y a los que se pueda agregar un conservador adecuado (ver más adelante). La composición puede estar en la forma de una solución, una suspensión, una emulsión, un dispositivo de infusión, o un dispositivo de suministro para implante, o puede presentarse como un polvo seco para reconstituirse con agua u otro vehículo adecuado antes de usarse. Aparte de los fármacos activos, la composición puede incluir vehículos y/o excipientes parenteralmente aceptables adecuados. Los fármacos activos se pueden incorporar en microesferas, microcápsulas, nanopartículas, liposomas, o similares para la liberación controlada. Además, la composición puede incluir agentes de suspensión, solubilizantes, estabilizantes, de ajuste del pH, y/o agentes dispersantes.

Como se indicó anteriormente, las composiciones farmacéuticas de conformidad con la invención pueden estar en una forma adecuada para inyección estéril. Para preparar esta composición, se disuelven o se suspenden los fármacos activos adecuados en un vehículo líquido parenteralmente aceptable. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear están agua, agua ajustada a un pH adecuado mediante la adición de una cantidad apropiada de ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, o un regulador adecuado, 1,3-butanodiol, solución de Ringer, y una solución isotónica de cloruro de sodio. Las formulaciones acuosas también pueden contener uno o más conservadores (por ejemplo, p-hidroxibenzoato de metilo, etilo, o propilo normal). En los casos en donde uno de los compuestos sea sólo escasamente o ligeramente soluble en agua, se puede agregar un agente mejorador de disolución o solubilizante, o el solvente puede incluir del 10 al 60 por ciento en peso/peso de propilenglicol.

### Composiciones Parenterales de Liberación Controlada

Las composiciones parenterales de liberación controlada para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 pueden estar en la forma de suspensiones acuosas, microesferas, microcápsulas, microesferas magnéticas, soluciones de aceite, suspensiones de aceite, o emulsiones. De una manera alternativa, los fármacos activos se pueden incorporar en vehículos biocompatibles, liposomas, nanopartículas, implantes, o dispositivos para infusión.

Los materiales para utilizarse en la preparación de microesferas y/o microcápsulas son, por ejemplo, polímeros biodegradables/bioerosionables, tales como poligalactina, poli(cianoacrilato de isobutilo), poli(2-hidroxietyl-L-glutamina), y poli(ácido láctico). Los vehículos biocompatibles que se pueden utilizar al formular una formulación parenteral de liberación controlada son carbohidratos (por ejemplo, dextranos), proteínas (por ejemplo, albúmina), lipoproteínas, o anticuerpos. Los materiales para utilizarse en implantes pueden ser no biodegradables (por ejemplo, polidimetilsiloxano), o pueden ser biodegradables (por ejemplo, poli(caprolactona), poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), o poli(orto-ésteres)).

### Composiciones Rectales

Para la aplicación rectal, las formas de dosificación adecuadas para una composición para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 incluyen supositorios (de tipo en emulsión o en suspensión), y cápsulas de gelatina rectales (soluciones o suspensiones). En una formulación típica de supositorio, los fármacos activos se combinan con una base de supositorio farmacéuticamente aceptable apropiada, tal como manteca de cacao, ácidos grasos esterificados, gelatina glicerizada, y diferentes bases solubles o dispersables en agua como polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán de polioxietileno. Se pueden incorporar diferentes aditivos, mejoradores, o tensoactivos.

### Composiciones para Inhalación

Para la administración mediante inhalación, las formas de dosificación típicas para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 incluyen rocíos nasales y aerosoles. En una formulación nasal típica, los ingredientes activos se disuelven o se dispersan en un vehículo adecuado. Los vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables (así como otros materiales farmacéuticamente aceptables presentes en la composición, tales como diluyentes, mejoradores, agentes saborizantes, y conservadores) se seleccionan de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional de una manera entendida por los técnicos en el campo de la formulación de productos farmacéuticos.

### Composiciones Percutáneas y Tópicas

Las composiciones farmacéuticas para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 también se pueden administrar tópicamente en la piel para la absorción percutánea en formas de dosificación o formulaciones que contengan vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales, incluyendo microesferas y liposomas. Las formulaciones para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 incluyen cremas, ungüentos, lociones, linimentos, geles, hidrogeles, soluciones, suspensiones, varillas, rocíos, pastas, emplastes, y otras clases de sistemas de suministro transdérmico de fármacos. Los vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables pueden incluir agentes emulsionantes, antioxidantes, agentes reguladores del pH, conservadores, humectantes, mejoradores de penetración, agentes quelantes, agentes formadores de gel, bases de ungüento, perfumes, y agentes protectores de la piel.

Los ejemplos de los agentes emulsionantes son gomas que se presentan naturalmente (por ejemplo, goma de acacia o goma de tragacanto), y fosfatidas que se presentan naturalmente (por ejemplo, lecitina de semilla de soja y derivados de mono-oleato de sorbitán). Los ejemplos de los anti-oxidantes son hidroxianisol butilado (BHA), ácido ascórbico y sus derivados, tocoferol y sus derivados, hidroxianisol butilado, y cisteína. Los ejemplos de los conservadores son parabenos, tales como p-hidroxibenzoato de metilo o propilo, y cloruro de benzalconio. Los ejemplos de los humectantes son glicerina, propilenglicol, sorbitol, y urea. Los ejemplos de los mejoradores de penetración son propilenglicol, sulfóxido de dimetilo, trietanolamina, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, 2-pirrolidona y sus derivados, alcohol tetrahidrofurfurílico, y AZONE<sup>®</sup>. Los ejemplos de los agentes quelantes son EDTA de sodio, ácido cítrico, y ácido fosfórico. Los ejemplos de los agentes formadores de gel son Carbopol<sup>®</sup>, derivados de celulosa, bentonita, alginatos, gelatina, y polivinilpirrolidona. Los ejemplos de las bases de ungüento son cera de abejas, parafina, palmitato de cetilo, aceites vegetales, ésteres de sorbitán de ácidos grasos (Span), polietilenglicoles, y los productos de condensación entre los ésteres de sorbitán de ácidos grasos y óxido de etileno (por ejemplo, mono-oleato de sorbitán de polioxietileno (TWEEN<sup>®</sup>)).

Las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 para administración tópica a la piel, también se pueden utilizar en relación con la administración tópica sobre o cerca de la parte del cuerpo que se vaya a tratar. Las composiciones para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 se pueden adaptar para la aplicación directa, o para introducirse en orificios pertinentes del cuerpo (por ejemplo, orificios rectal, uretral,

vaginal, u oral). La composición para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11 se puede aplicar por medio de dispositivos especiales de suministro de fármacos, tales como parches, o alternativamente emplastes, cojines, esponjas, tiras, u otras formas de material flexible adecuado.

#### 5 **Composiciones Percutáneas y Tópicas de Liberación Controlada para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11**

10 Existen varios planteamientos para proporcionar un control de la velocidad sobre la liberación y permeación transdérmica de un fármaco para utilizarse de acuerdo con las reivindicaciones 1-11, incluyendo: sistemas moderados por membrana, sistemas adhesivos controlados por difusión, sistemas de matriz de tipo de dispersión, y sistemas de microdepósitos. Se puede obtener una composición percutánea y/o tópica de liberación controlada mediante la utilización de una mezcla adecuada de los planteamientos anteriormente mencionados.

15 En un sistema moderado por membrana, el fármaco activo está presente en un depósito que se encapsula totalmente en un compartimiento superficial moldeado a partir de un laminado impermeable al fármaco, tal como un laminado metálico-plástico, y una membrana polimérica de control de velocidad, tal como una membrana polimérica microporosa o no porosa (por ejemplo, un copolímero de etileno-acetato de vinilo). El compuesto activo solamente se libera a través de la membrana polimérica de control de velocidad. En el depósito del fármaco, la sustancia de fármaco activa se puede dispersar en una matriz polimérica sólida, o bien se puede suspender en un medio líquido viscoso tal como un fluido de silicona. Sobre la superficie externa de la membrana polimérica, se aplica una capa delgada de un polímero adhesivo para lograr un contacto íntimo del sistema transdérmico con la superficie de la piel. El polímero adhesivo de preferencia es un polímero hipoalergénico que sea compatible con el fármaco activo.

20 En un sistema adhesivo controlado por difusión, se forma un depósito del fármaco activo mediante la dispersión directa del fármaco activo en un polímero adhesivo, y luego se extiende el adhesivo que contenga al fármaco activo sobre una hoja plana de un respaldo metálico-plástico sustancialmente impermeable al fármaco, para formar una capa de depósito de fármaco delgada. Un sistema de matriz de tipo de dispersión se caracteriza porque se forma un depósito de la sustancia de fármaco activa mediante la dispersión sustancialmente homogénea de la sustancia de fármaco activa en una matriz polimérica hidrofílica o lipofílica, y luego se moldea el polímero que contiene al fármaco en un disco con un área superficial y grosor sustancialmente bien definidos. El polímero adhesivo se extiende a lo largo de la circunferencia para formar una tira de adhesivo alrededor del disco.

25 En un sistema de microdepósito, el depósito de la sustancia activa se forma suspendiendo primero los sólidos del fármaco en una solución acuosa de polímero soluble en agua, y luego se dispersa la suspensión del fármaco en un polímero lipofílico para formar una pluralidad de esferas microscópicas de depósitos de fármaco.

#### 30 **Dosificaciones**

35 La dosificación de cada compuesto de las combinaciones reivindicadas depende de varios factores, incluyendo: el método de administración, la condición que se vaya a tratar, la severidad de la condición, si la condición se va a tratar o a prevenir, y la edad, peso, y salud de la persona que se vaya a tratar. Adicionalmente, la información farmacogenómica (el efecto del genotipo sobre el perfil farmacocinético, farmacodinámico, o de eficacia de un producto terapéutico) acerca de un paciente particular, puede afectar la dosificación utilizada.

40 Como se describió anteriormente, el compuesto en cuestión se puede administrar oralmente en la forma de tabletas, cápsulas, elixires o jarabes, o rectalmente en la forma de supositorios. La administración parenteral de un compuesto se lleva a cabo adecuadamente, por ejemplo, en la forma de soluciones salinas, o con el compuesto incorporado en liposomas. En los casos en los que el compuesto por sí mismo no sea suficientemente soluble para disolverse, se puede aplicar un solubilizante, tal como etanol. Más adelante, para propósitos ilustrativos, se describen las dosificaciones para dipiridamol y fludrocortisona.

#### **Vías de Administración**

45 Para la administración oral, intramuscular, subcutánea, tópica, de inhalación, rectal, vaginal, y oftálmica de la pirimidopirimidina tetra-sustituida, la dosificación normalmente es de 0.5 a 800 mg/día, de preferencia de 18 a 600 mg/día, y más preferiblemente de 50 a 400 mg/día. La administración se puede hacer de una a cuatro veces al día durante un día hasta un año, e inclusive puede ser por toda la vida del paciente.

En muchos casos se indicará la administración crónica a largo plazo. Pueden ser necesarias dosificaciones hasta de 1,600 mg/día. Para la administración intravenosa de la pirimidopirimidina tetra-sustituida, la dosificación normalmente es

de 0.1 a 200 mg/día, de preferencia de 0.5 a 150 mg/día, y de una manera más preferible de 1 a 100 mg/día. La administración puede hacerse de una a cuatro veces al día. La dosificación sistémica dará como resultado concentraciones continuas en plasma de preferencia de 0.1 a 7.0  $\mu\text{M}$ , más preferiblemente de 0.5 a 5.0  $\mu\text{M}$ , y de una manera muy preferible de 1.0 a 2.0  $\mu\text{M}$ .

5 La dosificación del corticosteroide para utilizarse en combinación con la pirimidopirimidina tetra-sustituida normalmente es de 0.1 a 1,500 mg/día, de preferencia de 0.5 a 30 mg/día, y de una manera más preferible de 0.5 a 10 mg/día. La administración se puede hacer de una a cuatro veces al día durante un día hasta un año, e inclusive puede hacerse durante toda la vida del paciente. En muchos casos se administrará la administración crónica a largo plazo. Pueden ser necesarias dosificaciones hasta de 3,000 mg/día.

10 Los siguientes ejemplos son para ilustrar la invención.

#### **Ejemplo 1: preparación de una matriz de dilución en serie de la combinación mixta de compuestos por pares**

15 Se hicieron soluciones de suministro en 16 mg/ml de dipiridamol, y 1.6 mg/ml de acetato de fludrocortisona (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Estados Unidos; números de catálogo D9766 y F6127, respectivamente) en sulfóxido de dimetilo (DMSO). Las placas maestras de dipiridamol se hicieron agregando 25 microlitros de la solución de suministro concentrada a las columnas 3, 9, y 15 (filas C a N) de una placa de almacenamiento de polipropileno de 384 pozos que se había llenado  
20 previamente con 75 microlitros de sulfóxido de dimetilo anhidro. Utilizando un manipulador de líquidos TomTec Quadra Plus, se diluyeron en serie los 25 microlitros de la solución de suministro de dipiridamol cuatro veces en las columnas adyacentes (columnas 4-7, 10-13, 16-19). La sexta columna (8, 14, y 20) no recibió ningún compuesto, y sirvió como un control de vehículo. Las placas maestras de fludrocortisona se hicieron mediante la adición de 25 microlitros de la solución de  
25 suministro concentrada a los pozos apropiados (fila C, columnas 3-8; fila C, columnas 9-14; fila C, columnas 15-20; fila I, columnas 3-8; fila I, columnas 9-14; fila I, columnas 15-20) de la placa maestra de almacenamiento de polipropileno apropiada de 384 pozos. Estas placas maestras se habían llenado previamente con 75 microlitros de sulfóxido de dimetilo anhidro. Utilizando el manipulador de líquidos TomTec Quadra Plus, los 25 microlitros se diluyeron en serie cuatro veces en las filas adyacentes (filas D-G, y J-M). La sexta fila (H y N) no recibió ningún compuesto, para servir como un control de  
vehículo. Las placas maestras se sellaron y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta estar listas para usarse.

30 Las placas de combinación de dipiridamol/fludrocortisona finales se generaron mediante la transferencia desde cada una de las placas maestras de dipiridamol y fludrocortisona, a una placa de dilución conteniendo 100 microlitros del medio (RPMI; Gibco BRL, #11875-085), Suero Bovino Fetal al 10 por ciento (Gibco BRL, #25140-097), penicilina/estreptomicina al 2 por ciento (Gibco BRL, #15140-122), utilizando el manipulador de líquidos TomTec Quadra Plus. Luego se mezcló esta placa de dilución, y se transfirió una alícuota de 10 microlitros a la placa de ensayo final, la cual se había llenado previamente con 40 microlitros/pozo del medio RPMI, conteniendo el estimulante apropiado para activar la secreción de TNF $\alpha$  (ver más adelante).

#### **Ejemplo 2: ensayo para determinar la actividad supresora de TNF $\alpha$ mediante la combinación de dipiridamol y fludrocortisona**

35 La matriz de dilución del compuesto se ensayó utilizando un método ELISA de TNF $\alpha$ . Dicho de una manera breve, una suspensión de 100 microlitros de glóbulos blancos sanguíneos humanos diluidos contenidos adentro de cada pozo de una placa de poliestireno de 384 pozos (NalgeNunc), se estimuló para secretar TNF $\alpha$  mediante el tratamiento con una concentración final de 10 nanogramos/ml de 12-miristato 13-acetato de forbol (Sigma) y 750 nanogramos/microlitro de ionomicina (Sigma). Se agregaron diferentes concentraciones de cada compuesto de prueba en el momento del  
40 estímulo. Después de 16 a 18 horas de incubación a  $37^{\circ}\text{C}$  en una incubadora humidificada, la placa se centrifugó, y el sobrenadante se transfirió a una placa de poliestireno blanca opaca de 384 pozos (NalgeNunc, Maxisorb) recubierta con un anticuerpo anti-TNF (PharMingen, #18631D). Después de una incubación de dos horas, la placa se lavó (Tecan PowerWasher 384) con suero regulado con fosfato (PBS) conteniendo Tween 20 al 0.1 por ciento (monolaurato de sorbitán de polioxietileno), y se incubó durante una hora adicional con otro anti-cuerpo anti-TNF que se marcó con biotina (PharMingen, 18642S) y peroxidasa de rábano (HRP) acoplada con estreptavidina (PharMingen, #13047E). Después, la  
45 placa se lavó con Tween 20 al 0.1 por ciento/suero regulado con fosfato, y se agregó el sustrato de peroxidasa de rábano (que contiene luminol, peróxido de hidrógeno, y un mejorador tal como para-yodofenol) a cada pozo, y se midió la intensidad de la luz utilizando un luminómetro LJL Analyst. Los pozos de control contuvieron una concentración final de 1 microgramo/ml de ciclosporina A (Sigma).

50 Juntos, el dipiridamol y la fludrocortisona fueron capaces de suprimir la secreción de TNF $\alpha$  en la sangre, estimulada con 12-miristato 13-acetato de forbol y ionomicina. Como se ve en las Tablas 1 y 2, el dipiridamol fue capaz de mejorar la potencia de la fludrocortisona por 60 veces. En una concentración de 947 nM, la fludrocortisona sola inhibió la

5 secreción de TNF $\alpha$  por el 39 por ciento. La adición de 124 nM de dipiridamol a una concentración de solamente 15 nM de fludrocortisona dio como resultado la inhibición de la secreción de TNF $\alpha$  por el 39 por ciento (Tabla 1). La eficacia se mantuvo mientras que se reducían las especies totales del fármaco por más del 80 por ciento, desde 947 nM hasta 163 nM.

10 En la presencia de 2  $\mu$ M de dipiridamol, se logra una inhibición de TNF $\alpha$  del 50 por ciento con solamente 4 nM de fludrocortisona. Este nivel de inhibición no es posible con la fludrocortisona sola en concentraciones que se esperaría que causarían serios efectos secundarios inducidos por los mineralocorticoides. La mejora de la actividad de la fludrocortisona con el dipiridamol se observó en una pantalla secundaria (Tabla 2). Nuevamente, una dosis baja de 495 nM de dipiridamol mejoró la potencia de la fludrocortisona por más de 135 veces. De una manera específica, se requirieron 947 nM de fludrocortisona para lograr una reducción del 52 por ciento de la secreción de TNF $\alpha$ . Se midió una reducción similar (49 por ciento) para la combinación de 7 nM de fludrocortisona y 495 nM de dipiridamol. Además, la adición de 248 nM de dipiridamol dio como resultado un efecto supramáximo sobre la inhibición de la secreción de TNF $\alpha$  en concentraciones de fludrocortisona tan bajas como de 59 nM.

TABLA 1

Datos de la Pantalla Primaria de Fludrocortisona Contra Dipiridamol, Resultado Promedio de Dos Placas  
(% de supresión de TNF $\alpha$  de glóbulos blancos sanguíneos inducidos por P/I)

		Dipiridamol [ $\mu$ M]					
		7.927	1.982	0.495	0.124	0.031	0.000
Fludrocortisona ( $\mu$ M)	0.947	82.90	66.61	54.90	52.48	61.35	39.19
	0.237	81.88	69.99	52.35	52.11	46.77	36.66
	0.059	79.57	60.37	47.08	45.47	42.93	32.49
	0.015	77.13	54.06	40.70	38.73	30.62	22.63
	0.004	74.61	50.60	34.21	24.90	22.52	17.21
	0.000	66.37	35.24	13.21	9.08	3.68	0.00

TABLA 2

Datos de la Pantalla Secundaria de Fludrocortisona contra  
 Dipiridamol, Resultado Promedio de 2 Placas  
 (% de supresión de TNF $\alpha$  de glóbulos blancos sanguíneos  
 inducidos por P/I)

		Dipiridamol [ $\mu$ M]										
		7.927	3.964	1.982	0.991	0.495	0.248	0.124	0.062	0.031	0.000	
0.947		89.12	82.25	78.01	69.10	67.91	61.77	60.82	53.38	53.41	52.05	
0.473		92.64	84.40	78.44	70.25	65.06	60.25	56.14	53.68	50.07	50.16	
0.237		89.69	83.68	82.01	70.36	66.53	65.46	60.90	56.65	52.34	49.25	
0.118		87.58	80.66	76.13	68.18	65.89	67.09	58.91	54.17	47.39	46.42	
0.059		84.43	79.37	73.86	64.53	63.88	58.96	56.84	48.63	44.66	40.24	
0.030		88.61	76.42	68.58	65.77	62.08	51.31	49.96	47.02	44.19	36.95	
0.015		90.46	79.36	73.52	65.22	56.39	62.88	43.17	47.73	46.00	37.77	
0.007		84.11	75.29	69.74	64.61	48.90	42.05	38.92	39.27	36.70	29.49	
	Fludrocortisona [ $\mu$ M]											

0.004	79.02	75.15	65.79	55.19	46.00	41.93	35.15	30.94	30.20	22.40
	78.11	66.54	62.36	48.20	33.73	23.02	12.13	9.43	10.16	-3.50

**Ejemplo 3: preparación de una matriz de dilución en serie de la combinación mixta de los compuestos por pares**

Se preparó una matriz de compuestos de dipiridamol y prednisolona de acuerdo con el método del Ejemplo 1. La solución de suministro inicial de dipiridamol fue de 16 mg/ml, y de prednisolona fue de 1.6 mg/ml.

**Ejemplo 4: ensayo para determinar la actividad de supresión de TNF $\alpha$  mediante la combinación de dipiridamol y prednisolona**

La matriz de dilución de compuestos del Ejemplo 3 se ensayó utilizando el método ELISA de TNF $\alpha$  del Ejemplo 2. Los resultados se muestran en la Tabla 3. Juntos, el dipiridamol y la prednisolona fueron capaces de suprimir la supresión de TNF $\alpha$  en la sangre estimulada con 12-miristato 13-acetato de forbol y ionomicina hasta un mayor grado que cualquier compuesto solo. De una manera específica, el dipiridamol aumentó mucho la potencia de la prednisolona. La prednisolona sola, en una concentración de 250 nM, puede suprimir la secreción de TNF $\alpha$  por el 38 por ciento. Se puede alcanzar el mismo nivel de supresión (41 por ciento) con solamente 1 nM de prednisolona en combinación con 2  $\mu$ M de dipiridamol. Esto representa un cambio en la potencia de la prednisolona de más de 250 veces. Además, la adición de 2  $\mu$ M de dipiridamol a 250 nM de prednisolona dio como resultado un efecto supramáximo (57 por ciento), comparándose con la prednisolona sola (38 por ciento). Por consiguiente, la combinación de dosis bajas de prednisolona y dipiridamol, da como resultado la inhibición de TNF $\alpha$  hasta niveles que previamente no se podían alcanzar sin un alto riesgo de efectos secundarios inducidos por glucocorticoides.

TABLA 3							
Datos de la Pantalla Primaria de Prednisolona Contra Dipiridamol, Resultado Promedio de Dos Placas							
(% de supresión de TNF $\alpha$ de glóbulos blancos sanguíneos inducidos por P/I)							
		Dipiridamol [ $\mu$ M]					
		7.93	1.98	0.50	0.12	0.031	0.00
Fludrocortisona ( $\mu$ M)	0.250	70.30	56.72	48.90	50.82	46.08	38.25
	0.063	68.53	57.68	51.61	47.24	37.57	33.00
	0.016	66.48	45.20	40.12	40.99	32.42	37.84
	0.004	61.06	47.25	34.66	33.48	32.42	19.99
	0.001	57.35	40.84	32.10	25.47	20.64	4.86
	0.000	47.51	27.21	18.30	12.63	11.24	0.00

## REIVINDICACIONES

1. Un medicamento que comprende

(a) un corticosteroide; y

(b) dipiridamol

5 para utilizarse en un método para tratar a un paciente que tiene un desorden inmuno-inflamatorio o está en riesgo de desarrollar un desorden inmuno-inflamatorio, donde dicho desorden inmuno-inflamatorio se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, espondilitis anquilosante, fibromialgia, esclerosis múltiple, diabetes de tipo I, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren y muerte de células del cerebro inducida por embolia; donde dicho medicamento comprende dicho dipiridamol y dicho corticosteroide, los cuales deben ser administrados de manera simultánea o dentro de 14 días uno del otro, en cantidades y por una duración suficiente para tratar a dicho paciente.

15 2. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho corticosteroide es algestona, 6-alfa-fluoroprednisolona, 6-alfa-metilprednisolona, 21-acetato de 6-alfa-metilprednisolona, sal sódica de 21-hemisuccinato de 6-alfa-metilprednisolona, 17-butilato de 21-acetato de 6-alfa-9-alfa-difluoroprednisolona, amcinafal, beclometasona, dipropionato de beclometasona, monohidrato de dipropionato de beclometasona, 6-beta-hidroxicortisol, betametasona, 17-valerato de betametasona, budesonida, clobetasol, propionato de clobetasol, clobetasona, clocortolona, pivalato de clocortolona, cortisona, acetato de cortisona, cortodoxona, deflazacort, 21-desoxicortisol, deprodona, descinolona, desonida, desoximetasona, dexametasona, 21-acetato de dexametasona, diclorisona, diflorasona, diacetato de diflorasona, diflucortolona, doxibetasol, fludrocortisona, flumetasona, pivalato de flumetasona, flumoxonida, flunisolida, fluciclonida, acetonida de fluciclonida, 9-fluorocortisona, fluorohidroxiandrostenodiona, fluorometolona, acetato de fluorometolona, fluoximesterona, flupredideno, fluprednisolona, flurandrenolida, formocortal, halcinonida, halometasona, halopredona, hircanosida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, probutato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, 6-hidroxidexametasona, isoflupredona, acetato de isoflupredona, isoprednido, meclorisona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, parametasona, acetato de parametasona, prednisolona, acetato de prednisolona, metasulfobenzato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutato de prednisolona, ácido libre de 21-hemisuccinato de prednisolona, 21-acetato de prednisolona, prednisolona-21(beta-D-glucuronida), prednisona, prednilideno, procinonida, tralonida, triamcinolona, acetonida de triamcinolona, 21-palmitato de acetonida de triamcinolona, diacetato de triamcinolona, hexacetona de triamcinolona, o wortmannina.

30 3. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 2, donde dicho corticosteroide es fludrocortisona o prednisolona.

4. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 3, donde dicho corticosteroide es prednisolona o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

35 5. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1 ó 3 ó 4, donde dicho medicamento comprende dipiridamol y dicho corticosteroide, los cuales deben ser administrados dentro de diez días uno del otro, dentro de cinco días uno del otro, dentro de veinticuatro horas uno del otro, dentro de una hora uno del otro o dicho dipiridamol y dicho corticosteroide pueden ser administrados simultáneamente.

40 6. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1, 3 ó 4, donde dicho medicamento comprende dicho dipiridamol y dicho corticosteroide, los cuales deben administrarse en la misma formulación farmacéutica.

7. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1 ó 4, 5 ó 6, donde dicho desorden inmuno-inflamatorio es artritis reumatoide, psoriasis, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, espondilitis anquilosante o esclerosis múltiple.

45 8. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1, 4, 5, 6 ó 7, donde dicho medicamento comprende dicho dipiridamol en una cantidad de 0.5 a 800 mg/día y comprende dicho corticosteroide en una cantidad de 0.1 a 1500 mg/día, donde dicho medicamento comprende dicho dipiridamol en una cantidad de 18 a 600 mg/día y comprende dicho corticosteroide en una cantidad de 0.5 a 30 mg/día o donde dicho medicamento comprende dicho corticosteroide en una cantidad de 0.5 a 10 mg/día.

9. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1, 3, 4 ó 7, donde dicho medicamento comprende una dosis diaria de 18 a 600 mg de dipiridamol o una dosis diaria de 50 a 400 mg de dipiridamol.

10. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1, 3, 4 ó 7, donde dicho medicamento comprende una dosis diaria de 0.5 a 10 mg de fludrocortisona o prednisolona.

11. El medicamento para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1, 3 ó 4, donde dicho medicamento es formulado para administración oral o intravenosa.

12. Un medicamento que consiste en ingredientes activos y excipientes, donde dichos ingredientes activos consisten en un corticosteroide y dipiridamol y donde dicho medicamento es formulado para administración oral.

13. El medicamento de la reivindicación 12, donde dicho corticosteroide es algestona, 6-alfa-fluoroprednisolona, 6-alfa-metilprednisolona, 21-acetato de 6-alfa-metilprednisolona, sal sódica de 21-hemisuccinato de 6-alfa-metilprednisolona, 17-butilato de 21-acetato de 6-alfa-9-alfa-difluoroprednisolona, amcinafal, beclometasona, dipropionato de beclometasona, monohidrato de dipropionato de beclometasona, 6-beta-hidroxicortisol, betametasona, 17-valerato de betametasona, budesonida, clobetasol, propionato de clobetasol, clobetasona, clocortolona, pivalato de clocortolona, cortisona, acetato de cortisona, cortodoxona, deflazacort, 21-desoxicortisol, deprodona, descinolona, desonida, desoximetasona, dexametasona, 21-acetato de dexametasona, diclorisona, diflorasona, diacetato de diflorasona, diflucortolona, doxibetasol, fludrocortisona, flumetasona, pivalato de flumetasona, flumoxonida, flunisolida, fluocinonida, acetonida de fluocinolona, 9-fluorocortisona, fluorohidroxiandrostenediona, fluorometolona, acetato de fluorometolona, fluoximesterona, flupredideno, fluprednisolona, flurandrenolida, formocortal, halcinonida, halometasona, halopredona, hircanosida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, probutato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, 6-hidroxidexametasona, isoflupredona, acetato de isoflupredona, isoprednideno, meclorisona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, parametasona, acetato de parametasona, prednisolona, acetato de prednisolona, metasulfobenzoato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutato de prednisolona, ácido libre de 21-hemisuccinato de prednisolona, 21-acetato de prednisolona, prednisolona-21(beta-D-glucuronida), prednisona, prednilideno, procinonida, tralonida, triamcinolona, acetonida de triamcinolona, 21-palmitato de acetonida de triamcinolona, diacetato de triamcinolona, hexacetona de triamcinolona, o wortmannina.

14. El medicamento de la reivindicación 13, donde dicho corticosteroide es fludrocortisona o prednisolona.

15. El medicamento de la reivindicación 14, donde dicho corticosteroide es prednisolona o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.

16. El medicamento de la reivindicación 14 ó 15, donde dicho medicamento comprende una dosis diaria de 0.5 a 10 mg de fludrocortisona o prednisolona.

17. El medicamento de la reivindicación 12, 14 ó 15, donde dicho medicamento comprende una dosis diaria de 0.5 a 10 mg de corticosteroide.

18. El medicamento de la reivindicación 12, 14 ó 15, donde dicho medicamento comprende una dosis diaria de 18 a 600 mg de dipiridamol o una dosis diaria de 50 a 400 mg de dipiridamol.

19. Una composición que comprende dos ingredientes activos, donde el primero de dichos ingredientes activos es un corticosteroide y el segundo de dichos ingredientes activos es dipiridamol, y donde dicha composición es formulada para administración oral.

20. La composición de la reivindicación 19, donde dicho corticosteroide es algestona, 6-alfa-fluoroprednisolona, 6-alfa-metilprednisolona, 21-acetato de 6-alfa-metilprednisolona, sal sódica de 21-hemisuccinato de 6-alfa-metilprednisolona, 17-butilato de 21-acetato de 6-alfa-9-alfa-difluoroprednisolona, amcinafal, beclometasona, dipropionato de beclometasona, monohidrato de dipropionato de beclometasona, 6-beta-hidroxicortisol, betametasona, 17-valerato de betametasona, budesonida, clobetasol, propionato de clobetasol, clobetasona, clocortolona, pivalato de clocortolona, cortisona, acetato de cortisona, cortodoxona, deflazacort, 21-desoxicortisol, deprodona, descinolona, desonida, desoximetasona, dexametasona, 21-acetato de dexametasona, diclorisona, diflorasona, diacetato de diflorasona, diflucortolona, doxibetasol, fludrocortisona, flumetasona, pivalato de flumetasona, flumoxonida, flunisolida, fluocinonida, acetonida de fluocinolona, 9-fluorocortisona, fluorohidroxiandrostenediona, fluorometolona, acetato de fluorometolona, fluoximesterona, flupredideno, fluprednisolona, flurandrenolida, formocortal, halcinonida, halometasona, halopredona,

- 5 hircanosida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, probutato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, 6-hidroxidexametasona, isoflupredona, acetato de isoflupredona, isoprednido, meclorisona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, parametasona, acetato de parametasona, prednisolona, acetato de prednisolona, metasulfobenzoato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutato de prednisolona, ácido libre de 21-hemisuccinato de prednisolona, 21-acetato de prednisolona, prednisolona-21(beta-D-glucuronida), prednisona, prednilideno, procinonida, tralonida, triamcinolona, acetona de triamcinolona, 21-palmitato de acetona de triamcinolona, diacetato de triamcinolona, hexacetona de triamcinolona, o wortmannina.
- 10 21. La composición de la reivindicación 19, donde dicha composición comprende una dosis diaria de 18 a 600 mg de dipiridamol o una dosis diaria de 50 a 400 mg de dipiridamol.
22. La composición de la reivindicación 20 ó 21, donde dicho corticosteroide es fludrocortisona o prednisolona.
23. La composición de la reivindicación 22, donde dicho corticosteroide es prednisolona o una sal farmacéuticamente aceptable de esta.
- 15 24. La composición de la reivindicación 22 ó 23, donde dicha composición comprende una dosis diaria de 0.5 a 10 mg de fludrocortisona o prednisolona.