

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 398 480**

51 Int. Cl.:

A61K 31/135 (2006.01)

A61K 31/167 (2006.01)

A61K 31/575 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2007 E 07843370 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2012 EP 2077830**

54 Título: **Procedimientos, composiciones, y formulaciones para el tratamiento de la enfermedad ocular tiroidea**

30 Prioridad:

17.10.2006 US 852221 P

29.01.2007 US 898009 P

20.03.2007 US 919011 P

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

19.03.2013

73 Titular/es:

**LITHERA, INC. (100.0%)
9191 TOWNE CENTRE DRIVE SUITE 400
SAN DIEGO CALIFORNIA 92122, US**

72 Inventor/es:

DOBAK, JOHN DANIEL

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 398 480 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

Procedimientos, composiciones, y formulaciones para el tratamiento de la enfermedad ocular tiroidea.

5 Antecedentes de la invención

La enfermedad de Graves es un trastorno común con una incidencia en las mujeres de 1/1.000 de la población/año. Además de hipertiroidismo, 25-50% de los individuos con enfermedad de Graves desarrollan participación clínica de los ojos, es decir, la enfermedad ocular tiroidea. La oftalmopatía de Graves (OG) es una forma típica de la enfermedad ocular tiroidea. Mientras que algunos pacientes con experiencia en OG sólo padecen incomodidad ocular leve, del 3 al 5% padecen dolor intenso e inflamación con visión doble o incluso la pérdida de visión.

Los síntomas y signos clínicos de OG puede explicarse mecánicamente por el aumento en el volumen de tejido evidente dentro de la órbita ósea. Los tejidos orbitarios expandidos producen desplazamiento hacia adelante del globo y deterioro de la salida venosa y linfática de la órbita. Estos cambios, junto con la producción local de citocinas y otros mediadores de la inflamación, producen exoftalmia, edema periorbitario, eritema conjuntivo y quemosis.

(Figura 1).

El documento WO 2004/103057 da a conocer composiciones farmacéuticas, procedimientos para aumentar la frecuencia de apoptosis en las células del tejido adiposo y procedimientos de reducción de la masa de tejido adiposo en un anfitrión. El procedimiento WO 98/48810 da a conocer un procedimiento para mejorar la salud, la supervivencia y el ritmo del crecimiento muscular de animales, mientras se reduce la grasa del esqueleto y se mejora la eficiencia de la alimentación al administrar un eutómero prácticamente puro de un agonista beta-2 adrenérgico. El documento US 2005/113456 da a conocer un procedimiento que utiliza un eutómero ópticamente puro de salbutamol para reducir la grasa corporal y/o el peso corporal en mamíferos y aves.

El documento WO 2004/028545 da a conocer una combinación de un agonista beta-2 de acción prolongada y un glucocorticoide en el tratamiento de enfermedades fibróticas. El documento WO 03/033000 da a conocer combinaciones farmacéuticas que comprenden salmeterol y propionato de fluticasona para el tratamiento del asma.

Sumario de la invención

En la presente memoria se describen composiciones, formulaciones, procedimientos y sistemas para tratar la enfermedad ocular tiroidea poniendo en contacto un depósito específico de grasa en el ojo con una composición que comprende el agonista del receptor beta-2 adrenérgico de acción prolongada y un compuesto que reduce la desensibilización del receptor beta-adrenérgico en el tejido diana al agonista del receptor beta-2 adrenérgico de acción prolongada. Las formas de realización de la composición se administran, por ejemplo, por inyección retrobulbar (detrás del ojo) y/o por vía transocular. El glucocorticosteroide tiene el efecto añadido de reducción de las células inflamatorias y liberación de citocinas inflamatorias presentes en la órbita y el tejido adiposo de la órbita.

Por consiguiente, en un aspecto en la presente memoria se proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un agonista beta-adrenérgico y una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un compuesto para la reducción de la desensibilización del receptor beta-adrenérgico para su utilización en la reducción de la acumulación de grasa orbitaria en un paciente que necesita el tratamiento (por ejemplo, una persona que padece la enfermedad ocular tiroidea). En algunas formas de realización, el paciente que necesita el tratamiento descrito anteriormente está padeciendo de oftalmopatía de Graves. En algunas formas de realización, que necesita el tratamiento está padeciendo distensión de los músculos extraoculares. En algunas formas de realización, el paciente está padeciendo exoftalmia.

En algunas formas de realización, la administración de por lo menos el agonista beta-adrenérgico o al menos un compuesto para reducir la desensibilización es parenteral, oral, intraocular, intraorbitaria, intraconal, oftálmica, retrobulbar, periorbitaria, tópica, intramuscular, transdérmica, sublingual, intranasal o respiratoria.

En algunas formas de realización, al menos un compuesto para la reducción de desensibilización del receptor beta-adrenérgico se administra antes (por ejemplo, aproximadamente 3 días a aproximadamente 7 días antes) por lo menos un agonista beta-adrenérgico. En algunas formas de realización, se administra por lo menos un compuesto por una vía de administración intraocular, intraorbitaria, oftálmica, periorbitaria, retrobulbar o intraconal. En algunas formas de realización, se administra por lo menos un compuesto en forma de una suspensión de micropartículas cristalinas.

En algunas formas de realización, por lo menos un compuesto se administra por vía oral y por lo menos un agonista beta-adrenérgico se administrada por vía oftálmica. Por lo menos un agonista beta-adrenérgico administrado por vía oftálmica se administra en una formulación de micropartículas cristalinas.

En algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-adrenérgico que debe administrarse al paciente comprende un agonista beta-adrenérgico de acción prolongada. En algunas formas de realización, por lo menos un compuesto es un glucocorticosteroide y el agonista beta-adrenérgico de acción prolongada es salmeterol, formoterol o una combinación de los mismos. En algunas formas de realización, el agonista beta-adrenérgico que debe administrarse es un agonista beta-adrenérgico que es selectivo para el receptor beta-2 adrenérgico. En algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende salmeterol, formoterol o cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende salmeterol y la cantidad terapéuticamente eficaz de salmeterol es de aproximadamente 0,01 µg/día a aproximadamente 100 µg/día (por ejemplo, aproximadamente 1 µg/día a aproximadamente 100 µg/día, aproximadamente 10 µg/día a aproximadamente 100 µg/día, o aproximadamente 50 µg/día a aproximadamente 100 µg/día) de salmeterol. En otras formas de realización, por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende formoterol y la cantidad terapéuticamente eficaz de formoterol es de aproximadamente 0,001 µg/día a aproximadamente 50 µg/día (por ejemplo, 0,01 µg/día a aproximadamente 1,0 µg/día, aproximadamente 0,1 µg/día a aproximadamente 10 µg/día, aproximadamente 1 µg/día a aproximadamente 20 µg/día, o aproximadamente 5 µg/día a aproximadamente 40 µg/día).

Por lo menos un compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta-adrenérgico es glucocorticosteroide. En algunas formas de realización, por lo menos un compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta-adrenérgico comprende dexametasona, prednisolona, metilprednisolona, propionato de fluticasona, budesonida, cetotifeno o cualquier combinación de los mismos.

En algunas formas de realización, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente inmunosupresor por vía intraocular, intraorbitaria, oftálmica, periocular, retrobulbar o intraconal antes de la administración de por lo menos un agonista beta-adrenérgico y por lo menos un compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta-adrenérgico. En algunas formas de realización, el agente inmunosupresor se administra en forma de una suspensión de micropartículas cristalinas.

En otro aspecto, en la presente invención se proporciona una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un agonista beta-adrenérgico para su utilización en el tratamiento de la exoftalmia.

En algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende un agonista beta-adrenérgico de acción prolongada. En algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende un agonista beta-adrenérgico que es selectivo para el receptor beta-2 adrenérgico. En algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende salmeterol, formoterol, bambuterol, eformoterol, isoproterenol, albuterol o fenoterol. En algunas formas de realización, la composición comprende una mezcla de por lo menos un agonista beta-adrenérgico de acción prolongada y por lo menos un agonista beta-adrenérgico de acción a corto plazo. En algunas formas de realización, la composición comprende también una cantidad terapéuticamente eficaz de hialuronidasa.

En algunas formas de realización, la composición comprende salmeterol y se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de salmeterol desde aproximadamente 0,01 µg/día a aproximadamente 100 µg/día. En otras formas de realización, la composición comprende formoterol y se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de formoterol desde aproximadamente 0,001 µg/día a aproximadamente 50 µg/día.

En algunas formas de realización, la administración de la composición es parenteral, oral, intraocular, intraorbitaria, periorbitaria, oftálmica, retrobulbar, intraconal, tópica, intramuscular, transdérmica, sublingual, intranasal o respiratoria.

En la presente memoria se describe un procedimiento para reducir la acumulación de grasa orbitaria en un paciente en necesidad de tratamiento administrando al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos que estimulan la serie de reacciones del receptor adrenérgico y una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta-adrenérgico. Uno o más compuestos que estimulan la serie de reacciones del receptor adrenérgico comprenden una catecolamina, un antagonista alfa adrenérgico, forskolina, aminofilina o análogos de los mismos.

En otro aspecto todavía en la presente memoria se proporciona una composición oftálmica farmacéutica que comprende un excipiente oftalmológicamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de metilprednisolona o propionato de fluticasona en forma de una suspensión de micropartículas cristalinas. En algunas formas de realización, la composición farmacéutica oftálmica comprende además acetato de metilprednisolona disuelto o propionato de fluticasona disuelto. En algunas formas de realización, la composición farmacéutica oftálmica comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un agonista beta-2 de acción prolongada en forma de una suspensión de micropartículas cristalinas.

En otro aspecto en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica oftálmica que comprende un excipiente oftalmológicamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un agonista beta-2 de

acción prolongada en forma de una suspensión de micropartículas cristalinas. En algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-2 de acción prolongada comprende salmeterol o formoterol. En algunas formas de realización, la composición farmacéutica oftálmica comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz por lo menos de un agonista beta-2 disuelto de acción prolongada. En algunas formas de realización, la composición farmacéutica oftálmica comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta-adrenérgicos en forma de una suspensión de micropartículas cristalinas.

En un aspecto adicional en la presente memoria se proporciona por lo menos un agonista beta-adrenérgico y por lo menos un compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta-adrenérgico para su utilización en el tratamiento de una enfermedad que implica la acumulación de grasa orbitaria.

Breve descripción de los dibujos

Las nuevas características de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Las características y ventajas de la presente invención se pondrán más claramente de manifiesto haciendo referencia a la siguiente descripción detallada que expone formas de realización ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención, y de los dibujos adjuntos en los que:

La FIG. 1 es una ilustración esquemática de la lipólisis de adipocitos.

La FIG. 2 es un gráfico de barras que ilustra la inducción dependiente de la dosis de la lipólisis en adipocitos cultivados por el agonista beta-2 formoterol de acción prolongada después de una incubación de tres horas.

La FIG. 3 es un gráfico de barras que ilustra la inducción dependiente de la dosis de la lipólisis en adipocitos cultivados por el agonista beta-2 salmeterol de acción prolongada después de una incubación de tres horas.

La FIG. 4 es un gráfico de barras que ilustra la inducción dependiente de la dosis de la lipólisis en adipocitos cultivados por el glucocorticosteroide budesonida después de un corto período de incubación (tres horas), y la supresión de la lipólisis después de períodos de incubación más largos (18 horas).

La FIG. 5 es un gráfico de barras que ilustra la supresión dependiente de la dosis de la lipólisis en adipocitos cultivados por el agonista beta-2 salmeterol de acción prolongada administrado solo durante 18 horas, y la inducción dependiente de la dosis de la lipólisis por salmeterol después de 18 horas cuando se administra en combinación con el glucocorticosteroide budesonida.

La FIG. 6 es un gráfico de barras que ilustra el promedio dentro de las diferencias de animales en la masa de grasa en la almohadilla del epidídimo (almohadilla de grasa izquierda frente a almohadilla de grasa derecha) en las almohadillas de grasa inyectadas con solución de vehículo (2% PEG), formoterol solo o formoterol más budesonida durante un período de tratamiento de tres días.

La FIG. 7 es un gráfico de barras que ilustra la reducción dependiente de la dosis de la masa de grasa en la almohadilla para dos combinaciones diferentes de dosis del agonista beta-2 formoterol y del glucocorticosteroide budesonida durante un período de tratamiento de tres días.

Descripción detallada de la forma de realización preferida

Las exploraciones tomográficas computarizadas demuestran que la mayoría de los pacientes con OG presentan distensión tanto de la grasa orbitaria como de los músculos extraoculares, mientras que otros parecen tener sólo tejido adiposo o participación de los músculos extraoculares. Las propias células de los músculos extraoculares están intactas en la enfermedad temprana, activa, lo que sugiere que ellas mismas son las dianas de ataque autoinmunitario. Más bien, la distensión de los cuerpos de los músculos extraoculares resulta de una acumulación de mucopolisacáridos hidrófilos, incluyendo especialmente hialuronano, dentro de los tejidos conectivos de perimio. En la enfermedad en etapa posterior, el proceso de resolución inflamatorio dentro de los músculos puede dejarlos fibróticos y desalineados.

El aumento en el volumen de los tejidos adiposo/conectivo dentro de la órbita parece contribuir más significativamente al volumen total de tejido orbitario expandido que hace la distensión de los músculos extraoculares. Estudios tomográficos computarizados demuestran que las mediciones de exoftalmia en estos pacientes son las más estrechamente correlacionadas con el volumen del compartimento de grasa. Este volumen de tejido adiposo expandido parece ser el resultado tanto de la acumulación de hialuronano con edema acompañante, como de la aparición de una población de adipocitos recién diferenciados dentro de estos tejidos.

El examen histológico de los tejidos orbitarios en OG pone de manifiesto que los cambios característicos resultan principalmente de la acumulación de hialuronano con edema, la expansión del compartimento de grasa y la infiltración de los tejidos por los linfocitos T. Los adipocitos orbitarios en esta enfermedad parecen estar

diferenciados, aunque más pequeños que otros adipocitos del cuerpo (por ejemplo, subcutánea o epiploico). Los adipocitos orbitarios de OG expresan mayores niveles de PPAR-gamma, adiponectina y transcripciones de leptina ARNm. Además, los adipocitos orbitarios pueden menos 11-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 1, una enzima implicada en la conversión de cortisona en la forma activa cortisol.

5 Los estudios que utilizan células obtenidas a partir de estos tejidos han demostrado que los fibroblastos orbitarios son una célula orbitaria que pueden participar en estos procesos celulares diversos. Estas células son particularmente sensibles a la estimulación por citocinas y otros mediadores inmunológicos, respondiendo mediante el aumento de la expresión de CD40, sintetizando grandes cantidades de ácido hialurónico y segregando citocinas inflamatorias. Además, la subpoblación de preadipocitos de fibroblastos es capaz de diferenciarse en células adiposas maduras que presentan altos niveles de TSHR. También se ha demostrado que los fibroblastos presentan IGF-IR. Cuando se unen a la IgG de los pacientes de Graves, estos receptores inician la señalización corriente abajo que da como resultado la producción de RANTES e IL-16 y conduce a la infiltración linfocítica local. La especificidad relativa de sitio de la participación orbitaria en la enfermedad de Graves se puede explicar tanto por la sensibilidad relativa de estos fibroblastos de mediadores inmunes, como por las características anatómicas únicas de estos sitios que parecen predisponerlos a compresión de canales linfáticos y venosos a baja presión.

20 El tejido adiposo es el tejido para almacenamiento de energía principal del cuerpo. Las células de grasa, o adipocitos, almacenan esta energía en forma de triglicéridos. Los triglicéridos se movilizan desde las reservas de grasa para proporcionar energía calórica al cuerpo a través de la inducción hormonal de la hidrólisis de los triglicéridos. Este proceso libera ácidos grasos libres o no esterificados y glicerol en la sangre para su utilización por otros tejidos del cuerpo. La descomposición de los triglicéridos procedentes de la reserva de grasa se denomina lipólisis. El crecimiento de nuevos adipocitos también se produce, lo que se conoce como adipogénesis.

25 Las catecolaminas son los reguladores principales del tejido adiposo a través de los receptores adrenérgicos. El tejido adiposo tiene receptores adrenérgicos beta-1, 2, y 3 y receptores alfa-2 adrenérgicos. La unión de beta-agonistas a beta-receptores en el tejido adiposo puede producir lipólisis de adipocitos, mientras que la unión de agonistas de receptores alfa pueden inhibir la lipólisis. La activación de los receptores beta también puede inhibir la adipogénesis. En los seres humanos, los receptores beta-2 son a menudo los más abundantes en la superficie de los adipocitos y el principal mediador de la lipólisis estimulada por receptores beta. En la estimulación de la lipólisis por beta-agonistas interviene la adenilato ciclasa y la mayor formación de monofosfato de adenosina cíclico (AMP cíclico, AMPc). Los receptores alfa 2 reducen la lipólisis en los adipocitos maduros. Los receptores alfa-2 adrenérgicos pueden estar involucrados en la proliferación de los preadipocitos. Los glucocorticosteroides pueden tener un efecto permisivo sobre el tejido adiposo y aumentan las respuestas de los adipocitos, tales como la lipólisis, a la estimulación de catecolamina. Esta acción permisiva tal vez debido a la regulación por aumento de receptores beta-adrenérgicos y otros componentes que participan en mensajeros intracelulares secundarios.

40 El tratamiento de OG necesariamente estaría dirigido a reducir el volumen del tejido graso de la órbita expandido. Por consiguiente, una formulación para reducir el volumen de los adipocitos mediante la lipólisis puede ser útil para esta afección. Además, una reducción en el proceso inflamatorio y las células inflamatorias en la órbita que puede estar relacionado con la expansión del tejido adiposo puede reducir aún más el volumen de tejido orbitario. Además, el tratamiento de la acumulación hialuronano en la órbita, puede proporcionar una reducción de volumen adicional y el alivio de la oftalmopatía. Por último, la inhibición de la adipogénesis puede mejorar la afección.

45 La administración de principios activos adrenérgicos en el tejido subcutáneo, tanto agonistas beta como antagonistas alfa-2, se ha propuesto y se ha demostrado que produce la pérdida de grasa local y un mejor aspecto de acumulaciones locales de grasa. Por ejemplo, se ha demostrado que el isoproterenol 11 y la yohimbina 8 reducen la circunferencia del muslo en las mujeres. Debido a que estos agentes lipolíticos, especialmente los agonistas beta, son de acción a corto plazo y pueden eliminarse rápidamente del tejido adiposo, la lipólisis es probable que haya ocurrido durante solo un breve periodo después de la inyección por lo que se reduce la magnitud potencial del efecto a pesar de las múltiples inyecciones. Además, la exposición de largo duración de los adipocitos a agonistas beta produce desensibilización del receptor y disminución, y una pérdida de actividad lipolítica. Los medios para reducir o evitar estos efectos en el receptor también pueden mejorar la terapia. No obstante, una estrategia para tratar el adipocito en OG utilizando agentes adrenérgicos y glucocorticoides para provocar la lipólisis e inhibir la adipogénesis pueden proporcionar una reducción eficaz de la masa de tejido responsable de los signos clínicos y los síntomas.

60 En la presente memoria se describen formas de realización de composiciones farmacéuticas, formulaciones, procedimientos y sistemas para el tratamiento de la enfermedad ocular tiroidea (por ejemplo, oftalmopatía de Graves u "OG") mediante la reducción de la masa de tejido de la órbita. La reducción de la masa de tejido de la órbita puede reducir la exoftalmia, restaurar o evitar la pérdida de visión y la diplopía, y reducir el dolor. Esta reducción de la masa de tejido puede llevarse a cabo produciendo por lo menos uno de los siguientes efectos, incluyendo: reducción de la masa de grasa de la órbita, reducción de la inflamación (por ejemplo, células inflamatorias y citocinas), y reducción de la acumulación de glucosaminoglucanos (GAG). La reducción de la masa grasa puede conseguirse por modulación del sistema adrenérgico. Tal como se utiliza y/o se menciona en la presente memoria, el término "modulación" se utiliza generalmente en su sentido habitual, y más particularmente para referirse al agonismo del

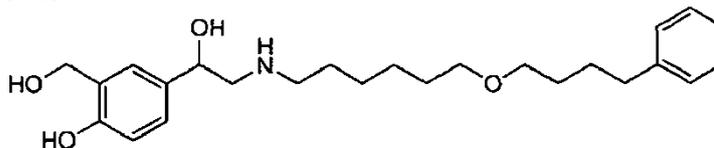
receptor adrenérgico, el antagonismo del receptor adrenérgico, y/o cambios en las rutas de señalización del receptor. Un ejemplo de un cambio en las rutas de señalización del receptor incluye un aumento del AMP cíclico, por ejemplo como se ilustra esquemáticamente en la FIG. 1. En algunas formas de realización, la modulación se refiere a la regulación por aumento del receptor o un aumento en el número de receptores adrenérgicos, una disminución en la desactivación o el secuestro del receptor, cambios de actividad del receptor (por ejemplo, un aumento de actividad), y/o cambios en la afinidad del receptor. La modulación de los receptores adrenérgicos puede producirse preferentemente con la utilización de un glucocorticosteroide o antihistamínico, que también actúa para reducir la inflamación. La acumulación de glucosaminoglucano se puede reducir de manera similar con la utilización del glucocorticosteroide y puede reducirse más con la utilización de una enzima, tal como hialuronidasa recombinante humana, para degradar el ácido hialurónico.

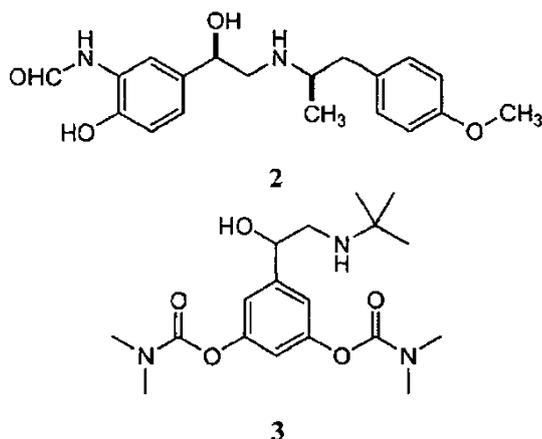
La reducción de la masa de grasa del tejido de la órbita se consigue preferentemente sin ablación, al iniciar la lipólisis, inhibir la adipogénesis o reducir la acumulación de lípidos. Los procedimientos de ablación para reducir la grasa, tales como fosfatidil-colina o desoxicolato pueden ser problemáticos para su utilización detrás del ojo, donde la destrucción no selectiva de tejido puede producir daños en los nervios o músculos o podría producir cicatrización y fibrosis. La estimulación de la lipólisis, la inhibición de la adipogénesis y la reducción de la acumulación de lípidos puede conseguirse por estimulación de los receptores beta-adrenérgicos. La estimulación de los receptores beta-adrenérgicos también puede contrarrestar algunas de las transcripciones celulares conocidas por ser regulada por disminución en adipocitos de la órbita en la oftalmopatía de Graves tales como PPAR-gamma, adiponectina y leptina. Por ejemplo, la estimulación del receptor beta-adrenérgico puede reducir PPAR-gamma y la expresión de adiponectina en adipocitos diferenciados. Se cree que algunas formas de realización de modulación prolongada de los receptores adrenérgicos en el tejido adiposo produce alguna combinación de lipólisis prolongada, contenido reducido de lípidos del adipocito, tamaño reducido de adipocitos, masa o acumulación de grasa reducida de tejido adiposo y/o se reduce. Algunas formas de realización proporcionan la reducción selectiva de acumulaciones orbitarias de tejido adiposo y adipocitos, mediante modulación adrenérgica prolongada. La modulación adrenérgica prolongada produce la inhibición prolongada de la proliferación de adipocitos (adipogénesis) en algunas formas de realización.

Varias formas de realización de las composiciones farmacéuticas descritas comprenden por lo menos un agonista del receptor beta-2 adrenérgico selectivo (por ejemplo, un agonista beta-2 selectivo de acción prolongada) en combinación con por lo menos un compuesto que reduce la desensibilización de los receptores beta-adrenérgicos, por ejemplo, la desensibilización del tejido diana para el/los agonista(s) del receptor beta-adrenérgico, es decir, los glucocorticosteroides, y también reducen la inflamación. El término desensibilización incluye tanto la desensibilización de corta duración (taquifilaxia), así como la desensibilización de larga duración, así como la desensibilización durante otros períodos de tiempo. Los agonistas del receptor beta-2 adrenérgico también se denominan en la presente memoria "agonistas beta-2" y "agonistas del receptor beta-2". A menos que se especifique lo contrario, las referencias a los agonistas del receptor beta-2 adrenérgico también incluyen sus análogos, sales fisiológicamente aceptables y/o solvatos. Algunas formas de realización de la composición comprenden agonista beta-2 selectivo de acción prolongada a glucocorticosteroide desde aproximadamente 100:1 a aproximadamente 1:100.

Como se expuso anteriormente, en la actividad lipolítica, en la inhibición de la proliferación de adipocitos y en la reducción en la acumulación de lípidos se cree que interviene la modulación de los receptores adrenérgicos en el tejido adiposo y/o en los adipocitos. En algunas formas de realización, la terapia de reducción se mejora por exposición prolongada o actividad prolongada de uno o más compuestos estimulantes de la ruta de los agonistas del receptor adrenérgico y/o del receptor, por ejemplo, catecolaminas, agonistas beta, antagonistas alfa, forskolina, aminofilina, sus análogos, o combinaciones de los mismos.

Algunas formas de realización proporcionan modulación adrenérgica prolongada mediante la utilización de composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agonistas del receptor beta-2 sustancialmente selectivos de acción prolongada. Algunas formas de realización de la composición farmacéutica de actividad prolongada comprenden uno o más agonistas beta-2 selectivos adecuados de acción prolongada, por ejemplo, salmeterol **1**, formoterol **2**, bambuterol **3**, eformoterol, sales o solvatos fisiológicamente aceptables de los mismos, o combinaciones de los mismos.

**1**



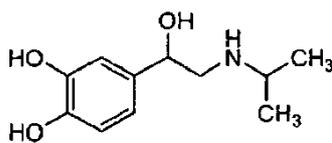
5 La modulación adrenérgica prolongada no puede observarse con composiciones adrenérgicas típicas porque el compuesto adrenérgico generalmente se elimina rápidamente del tejido adiposo a través de la sangre y/o la linfa, en parte debido a su hidrofilia. Además, la exposición prolongada del tejido adiposo a agentes adrenérgicos, concretamente a agonistas de los receptores beta, se cree que produce la desensibilización del receptor mediante la fosforilación y el secuestro del receptor. Se cree que estos efectos limitan la capacidad de una composición moduladora adrenérgica para tratar el tejido adiposo y producen taquifilaxia, una afección en la que el cuerpo experimenta una respuesta al agonista que disminuye rápidamente después de la administración de las dosis iniciales, al efecto lipolítico y antiadipogénesis deseado. Por consiguiente, el efecto del tratamiento es de corta duración.

15 Los agonistas beta-2 de acción a corto plazo a menudo producen taquifilaxia, como se expuso anteriormente. Sin embargo, debido a las formas de realización preferidas de los agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada tienen actividad del receptor beta-2 sustancialmente selectivo y alta lipofilia, las actividades de los agonistas beta-2 de acción prolongada continúan durante períodos más largos en el tejido adiposo en comparación con las de los agonistas beta-2 de acción a corto plazo. La actividad antagonista parcial del receptor beta-2, que se produce con la utilización de salmeterol, puede evitar alguna desensibilización que puede ocurrir con la exposición continua de los adipocitos a los agonistas adrenérgicos completos. Además, el salmeterol puede activar no completamente la señalización de arrestina que lleva a la interiorización y degradación del receptor y conduce a largo plazo en la regulación por disminución del receptor. En comparación con los agonistas beta-2 de acción a corto plazo, la lipólisis también se produce durante más tiempo después de la administración porque los agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada tienen vidas medias más prolongadas. La combinación de vidas medias más prolongadas y actividades puede reducir la frecuencia de administración de las composiciones farmacéuticas. Por consiguiente, en algunas formas de realización, no es necesaria la administración diaria o la administración de más de una vez al día de la composición. Además, las formas de realización preferidas de los agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada también presentan una mayor selectividad por los receptores beta-2, permitiendo al compuesto efectos terapéuticos sustancialmente similares con agonistas beta-2 de acción a corto plazo en una dosis menor. Además, la actividad de beta-2 más selectiva puede limitar los efectos secundarios cardíacos, que a menudo son provocados por la estimulación del receptor beta-1 en el corazón.

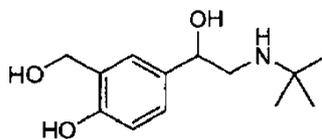
35 Como se expuso anteriormente, la lipólisis y/o la inhibición de la adipogénesis y la acumulación de lípidos son estimulados por los beta-1, 2 o 3 subtipos de receptor. Por lo tanto, los agonistas para uno, dos y/o los tres receptores son capaces de estimular la lipólisis y/o inhibición de la adipogénesis. En los seres humanos, se cree que la actividad del receptor beta-2 es más importante para estimular la lipólisis, en particular en presencia de un esteroide o glucocorticosteroide antiinflamatorio.

40 Los agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada, por ejemplo, salmeterol **1** (\pm 2-(hidroximetil)-4-[1-hidroxi-2-[6-(4-fenilbutoxi)hexilamino]etil]-fenol, CAS nº Reg. 94749-08-3), y formoterol **2** (\pm N-[2-hidroxi-5-[1-hidroxi-2-[1-(4-metoxifenil)propan-2-ilamino]etil]-fenil]metanamida, CAS Nº Reg. 73573-87-2), se prefieren en algunas formas de realización. Algunas formas de realización de las composiciones comprenden uno o más agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada como sales o solvatos fisiológicamente aceptables, por ejemplo, xinafoato de salmeterol y/o fumarato de formoterol. En muchos casos, las sales y/o solvatos de agonistas beta-2 tendrá la actividad deseada. En consecuencia, a menos que se especifique lo contrario, las referencias a un principio activo, por ejemplo, a salmeterol **1**, formoterol **2**, isoproterenol **4**, albuterol **5** fenoterol, y forskolina, incluyen los propios compuestos, así como análogos, sales y/o solvatos fisiológicamente aceptables de los mismos, o combinaciones de los mismos.

50



4



5

5 Algunos beta agonistas preferidos de acción prolongada presentan una alta actividad intrínseca de adenilato ciclasa, que aumentan la síntesis de cAMP. Por ejemplo, algunas formas de realización comprenden formoterol **2** como un agonista beta-2 selectivo, que presenta alguna combinación de mayor potencia, reduce los efectos sistémicos, gran activación intrínseca de adenilato ciclasa, y/o aumentos de AMP cíclico, un mediador de lipólisis.

10 En algunas formas de realización preferidas formoterol **2** está presente como sal fisiológicamente aceptable y/o solvato del mismo. Las sales fisiológicamente aceptables adecuadas de formoterol **2** incluyen, por ejemplo, sales de adición de ácido derivadas de ácidos inorgánicos y orgánicos, tales como el hidrocioruro, hidrobromuro, sulfato, fosfato, maleato, fumarato, tartrato, citrato, benzoato, 4-metoxibenzoato, 2-hidroxibenzoato, 4-hidroxibenzoato, 4-clorobenzoato, *p*-toluensulfonato, metansulfonato, ascorbato, salicilato, acetato, succinato, lactato, glutarato, gluconato, tricarbaliato, hidroxinaftalencarboxilato, oleato, combinaciones de los mismos, y similares. Las formas de realización preferidas comprenden formoterol **2** como su sal de fumarato y/o como un dihidrato. La concentración adecuada de formoterol **2** en el tejido para el tratamiento del tejido adiposo incluye desde aproximadamente 1 pM a aproximadamente 100 μM, más preferentemente de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 10 μM, por ejemplo, aproximadamente 1 nM a aproximadamente 1 μM, aproximadamente 40 nM a aproximadamente 3 μM, aproximadamente 0,1 μM a aproximadamente 1 μM, o cualquier otra concentración de formoterol en el tejido desde aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 10 μM.

25 En algunas formas de realización, el salmeterol se utiliza en las composiciones y procedimientos descritos en la presente memoria. El salmeterol **1** presenta actividad agonista parcial, que se cree que reduce la desensibilización del receptor y puede limitar la señalización de arrestina lo que conduce a menos descenso del receptor. En algunas formas de realización el salmeterol **1** está presente como sal fisiológicamente aceptable y/o solvato del mismo. Las sales fisiológicamente aceptables adecuadas de salmeterol **1** incluyen, pero no se limitan a sales de adición de ácido derivadas de ácidos inorgánicos y orgánicos, tales como el hidrocioruro, hidrobromuro, sulfato, fosfato, maleato, tartrato, citrato, benzoato, 4-metoxibenzoato, 2-hidroxibenzoato, 4-hidroxibenzoato, 4-clorobenzoato, *p*-toluensulfonato, metansulfonato, ascorbato, salicilato, acetato, fumarato, succinato, lactato, glutarato, gluconato, tricarbaliato, hidroxinaftalencarboxilato, 1-hidroxi-2-naftalencarboxilato, 3-hidroxi-2-naftalencarboxilato, oleato, combinaciones de los mismos, y similares. En algunas formas de realización el salmeterol **1** se proporciona como la sal de carboxilato de 1-hidroxi-2-naftaleno (hidroxinaftoato).

35 En algunas formas de realización, una concentración de salmeterol **1** adecuada en el tejido para tratamiento de tejido adiposo oscila entre aproximadamente 1 pM y aproximadamente 100 μM, preferentemente entre aproximadamente 1,0 nM y aproximadamente 1 μM, por ejemplo aproximadamente 10 nM a aproximadamente 1 μM, aproximadamente 40 nM a aproximadamente 3 μM, aproximadamente 0,1 μM a aproximadamente 1 μM, o cualquier otra concentración de salmeterol en el tejido desde aproximadamente 1,0 nM hasta aproximadamente 10 μM.

40 En algunas formas de realización, un agonista beta-2 selectivo de acción prolongada que debe administrarse es formoterol y una cantidad terapéuticamente eficaz de formoterol que debe administrarse es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 μg/día, por ejemplo, aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50, 0,01 a aproximadamente 1,0, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10, aproximadamente 1 a aproximadamente 20, aproximadamente 5 a aproximadamente 40, aproximadamente 25 a aproximadamente 75, aproximadamente 50 a aproximadamente 100 μg/día de formoterol, o cualquier otra dosis de formoterol desde aproximadamente 0,001 μg/día a aproximadamente 100 μg/día.

50 En algunas formas de realización, un agonista beta-2 selectivo de acción prolongada que debe administrarse es salmeterol y una cantidad terapéuticamente eficaz de salmeterol que debe administrarse es de aproximadamente 0,01 μg/día a aproximadamente 1.000 μg/día, por ejemplo, aproximadamente 0,1 μg/día a aproximadamente 100 μg/día, aproximadamente 1 μg/día a aproximadamente 100 μg/día, aproximadamente 10 μg/día a aproximadamente 100 μg/día, aproximadamente 50 μg/día a aproximadamente 100 μg/día, o cualquier otra dosis de salmeterol desde aproximadamente 0,01 μg/día a aproximadamente 1.000 μg/día.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz", como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una cantidad suficiente de un agente (por ejemplo, un agonista beta 2 de acción prolongada) o un compuesto que se administra que aliviará en cierto grado uno o más de los síntomas de la enfermedad o afección que se trata. El resultado puede ser la reducción y/o alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Por ejemplo, una "cantidad eficaz" para usos terapéuticos es la cantidad de la composición que incluye un compuesto como el descrito en la presente memoria requerida para proporcionar una disminución clínicamente significativa en los síntomas de la enfermedad sin efectos secundarios adversos indebidos. Una "cantidad eficaz" apropiada en cualquier caso individual se puede determinar utilizando técnicas tal como un estudio de escalada de dosis. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" incluye, por ejemplo, una cantidad profilácticamente eficaz. Una "cantidad eficaz" de un compuesto dado a conocer en la presente memoria, tal como un agonista beta-2 selectivo utilizado solo o en combinación con otros compuestos (por ejemplo, un compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta-2 adrenérgico), es una cantidad eficaz para conseguir un efecto farmacológico deseado o la mejora terapéutica sin efectos secundarios adversos indebidos. Debe apreciarse que "una cantidad eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" puede variar de un paciente a otro, debido a la variación en el metabolismo de los agonistas beta-2, y compuestos utilizados en combinación con agonistas beta-2 (por ejemplo, glucocorticosteroides), la edad, el peso, el estado general del sujeto, la afección que se trata, la gravedad de la afección que se trata y el criterio del médico que receta.

Algunas formas de realización comprenden isómeros ópticamente puros del o de los agonista(s) beta-adrenérgico(s)), lo que puede mejorar la lipólisis y la inhibición de la adipogénesis y reducir efectos secundarios potenciales. En algunas formas de realización, estos isómeros ópticamente puros permiten formulaciones que comprenden cargas más grandes de un principio activo, por ejemplo, mediante la eliminación de uno o más isómeros sin efecto fisiológico, un efecto fisiológico menor, un efecto negativo, y/o un efecto fisiológico debilitado. La eliminación de los límites no deseados de una mezcla racémica aísla el isómero activo, o eutómero, permitiendo así que deba cargarse más eutómero en una formulación dada mediante la eliminación de los componentes inactivos.

Dos centros estereógenos en una molécula generalmente generan dos diastereómeros, denominada en la presente memoria (R^* , R^*) y (R^* , S^*) y sus enantiómeros. Los diastereómeros y estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir, la imagen especular de un diastereómero no es superponible sobre otro diastereómero. Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes especulares entre sí. Un racemato es una mezcla 1:1 de enantiómeros. Los enantiómeros de los diastereómeros (R^* , R^*) se denominan enantiómeros, (R , R) y (S , S) que son imágenes especulares uno del otro y por lo tanto comparten algunas propiedades químicas y físicas, por ejemplo los puntos de fusión. Asimismo, los isómeros (R , S) y (S , R) son enantiómeros del enantiómero (R^* , S^*). Por ejemplo, formoterol **2** está disponible como un racemato de los isómeros (R , R)- y (S , S)- en una relación 1:1, por lo general como el dihidrato de la sal fumarato. Algunas formas de realización comprenden el enantiómero (R , R), (R , R)-formoterol, que es más activo que un agonista beta-2 de acción prolongada. Algunas formas de realización comprenden isómeros ópticamente puros de otros agonistas beta-2, por ejemplo, (R)-salmeterol.

Además, en algunas formas de realización, por lo menos un agonista beta-2 selectivo de acción prolongada es muy lipófilo, proporcionando de este modo una composición farmacéutica con actividad mantenida en el tejido graso. Se cree que la alta solubilidad en lípidos prolonga el tiempo de residencia del agonista beta-2 en el tejido adiposo, eliminando o reduciendo con ello la necesidad de un vehículo de liberación lenta y/o liberación controlada en algunas formas de realización. En las formulaciones que contienen un excipiente de liberación lenta, por ejemplo, un polímero de liberación lenta, la elevada lipofilia del agonista beta-2 facilita la incorporación en el vehículo de liberación lenta, como se expone con mayor detalle a continuación.

El salmeterol **1** y el formoterol **2** tienen altas solubilidades en lípidos, lo que amplía su tiempo de alojamiento en el tejido adiposo y/o en una o más células adiposas. Algunas formas de realización de la composición comprenden un agonista beta muy lipófilo, lo que reduce o elimina la necesidad de un excipiente de liberación lenta o controlada debido al reparto y secuestro en el tejido adiposo, prolongando de este modo el efecto del tratamiento. En algunas formas de realización, se utilizan agonistas beta con un coeficiente de reparto aceite-agua de por lo menos aproximadamente 1000 o al menos aproximadamente 10.000 a 1. Por ejemplo, el salmeterol **1** es por lo menos 10.000 veces más lipófilo que albuterol **5**, un agonista beta hidrófilo de acción a corto plazo. Además, el salmeterol **1** y el formoterol **2** tienen propiedades antiinflamatorias, que se utilizan en el tratamiento de OG como se expone a continuación. En algunas formas de realización, también estimulan cambios favorables de la matriz extracelular y reducen la acumulación de líquido, lo que mejora el tratamiento de la OG y acumulación de grasa orbitaria.

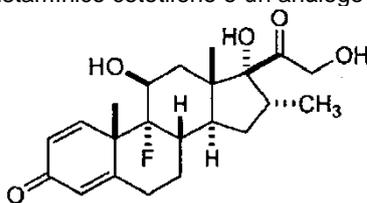
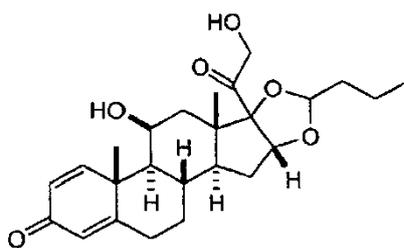
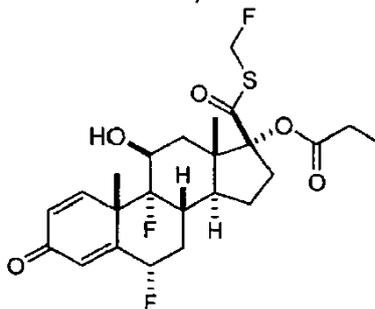
La actividad beta-adrenérgica prolongada se mejora aún más evitando la desensibilización (taquifilaxia) que puede ocurrir con la exposición continua de los adipocitos a los agonistas adrenérgicos como se expuso anteriormente. Los "compuestos que reducen la desensibilización de los receptores beta-adrenérgicos" (por ejemplo, reducen la desensibilización de un tejido diana a un agonista beta) incluyen todos los compuestos adecuados que reducen la tolerancia del tejido diana a los agonistas del receptor beta-adrenérgico, incluidos los glucocorticosteroides y antihistaminas adecuados, por ejemplo, cetotifeno y las hormonas tiroideas, por ejemplo T3 y T4. Los glucocorticosteroides son asimismo conocidos en la presente memoria como "esteroides antiinflamatorios", "glucocorticosteroides" y/o "corticosteroides". Los glucocorticosteroides se cree que sensibilizan acumulaciones de

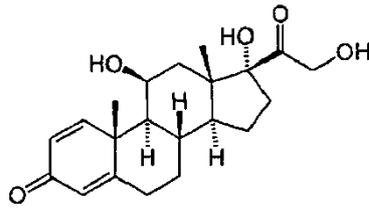
grasa orbitarias aumentando el número de receptores beta-2, lo que favorece la lipólisis o la reducción de grasa sobre el almacenamiento de grasa. Los glucocorticosteroides también pueden disminuir el número de receptores alfa-2. Los glucocorticosteroides también pueden estabilizar o reducir la regulación por disminución del receptor especialmente cuando se administra simultáneamente con un agonista beta. Es de destacar que la enfermedad de Graves y OG se presentan con mayor frecuencia en mujeres que en hombres. Los estrógenos pueden provocar la expresión de receptores alfa-2 adrenérgicos en el tejido adiposo subcutáneo en las mujeres produciendo una proporción de receptor beta-2 a receptor alfa-2 inferior a 1. Una proporción de receptores beta-2 a receptores alfa-2 superior a aproximadamente 1 se cree que provoca la reducción de grasa en lugar de la acumulación de grasa en los adipocitos. Algunas formas de realización de la composición que comprende uno o más glucocorticosteroides son eficaces en el tratamiento de las zonas de grasa que comprenden un reducido número de receptores beta-2 y o un número mayor de receptores alfa-2, que son resistentes a la estimulación beta-adrenérgica de la lipólisis o inhibición de la adipogénesis, por ejemplo, el tejido adiposo subcutáneo, especialmente en las mujeres.

Por lo tanto, los glucocorticosteroides u otros compuestos para reducir la desensibilización de los receptores beta-adrenérgicos se cree que mejora la lipólisis, la inhibición de la adipogénesis y/o la reducción de la grasa local durante la exposición al agonista beta. En algunas formas de realización, el tratamiento de los adipocitos con un glucocorticoesteroide que aumenta la actividad lipolítica mantiene y/o aumenta tanto la actividad lipolítica como el número de receptores beta en el tejido diana. Los ejemplos de corticosteroides adecuados incluyen dexametasona **6**, propionato de fluticasona **7**, budesonida **8**, prednisolona **9**, metilprednisolona **10**, y sus análogos. En algunas formas de realización, el glucocorticoesteroide es dexametasona. En algunas formas de realización, el corticosteroide es metilprednisolona, 6(9-fluoro-11,17-dihidroxi-17-(2-hidroxiacetil)-10,13,16-trimetil-6,7,8,11,12,14,15,16-octahidrociclopenta[a]fenantren-3-ona, nº Reg. CAS 50-02-2) y/o propionato de fluticasona **7**.

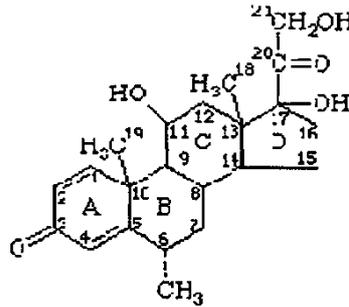
Como se expuso anteriormente, en algunas formas de realización, un compuesto adecuado para la reducción de la desensibilización del receptor beta puede ser cetotifeno **11**, que es también útil como un antihistamínico. Algunas formas de realización de la composición comprenden un compuesto que reduce la desensibilización del tejido adiposo al agonista beta-2.

En algunas formas de realización, se utiliza un gran número de compuestos para reducir la desensibilización de los receptores beta, es decir, un gran número de glucocorticosteroides. En la presente memoria se describe por lo menos un glucocorticoesteroide y el antihistamínico cetotifeno o un análogo de cetotifeno.

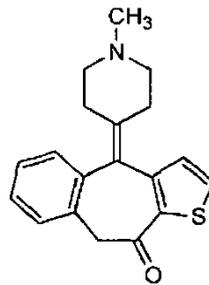
**6****7****8**



9



10



11

5

Por lo menos una actividad o densidad del receptor beta-2 aumenta en adipocitos de la órbita humana en respuesta a la administración de un esteroide antiinflamatorio o cetotifeno, en particular en presencia de un agonista beta. El aumento de actividad y/o densidad del receptor beta-2 potencia el efecto de los agonistas beta-2 de acción prolongada y a corto plazo. Así, el glucocorticoesteroide puede sensibilizar la grasa de la órbita a los efectos de la estimulación, lipólisis, inhibición de la adipogénesis y/o apoptosis del receptor beta-2, y/o aumentar la relación de los receptores beta-2 adrenérgicos a los receptores alfa-2 adrenérgicos, con lo que desplaza el equilibrio del tejido adiposo desde la acumulación de grasa a la pérdida de grasa. El número de receptores beta-2 aumenta o se mantiene especialmente con glucocorticoides, cetotifeno o la hormona tiroidea, especialmente cuando se administra junto con agonistas beta-2 adrenérgicos.

La adición de un antiinflamatorio tal como el glucocorticoesteroide o antihistamínico tiene el efecto añadido de reducir las células inflamatorias y la respuesta inflamatoria en la órbita. La órbita y la grasa orbitaria en OG tienen un infiltrado linfocítico difuso, incluyendo los agregados linfoides o nidos. Otros tejidos de la órbita, tales como los músculos extraoculares, tienen un infiltrado similar de glóbulos blancos. Los mastocitos también pueden estar presentes en grandes cantidades. La secreción de citocinas por estos linfocitos concuerda con las respuestas medicadas tanto celulares como humorales. Los glucocorticoesteroides reducen la acumulación de glóbulos blancos, la secreción de citocinas, y pueden provocar la apoptosis de los glóbulos blancos. Estos efectos pueden aumentarse por agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada. Además, los agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada pueden regular por aumento y estabilizar y estimular la transposición al núcleo del receptor para el glucocorticoesteroide en los glóbulos blancos, e incluso los adipocitos, además potenciar los efectos antiinflamatorios. Los glucocorticoesteroides y los agonistas beta de acción prolongada pueden estabilizar los mastocitos y pueden funcionar de forma aditiva o sinérgica. El cetotifeno también puede estabilizar los mastocitos y también puede inhibir el TNF-alfa, citocina importante en respuestas inflamatorias celulares medicadas con linfocitos.

Las concentraciones apropiadas en el tejido de los glucocorticoesteroides utilizados para los procedimientos terapéuticos descritos en la presente memoria pueden oscilar entre aproximadamente 0,001 μM y aproximadamente 10 mM, por ejemplo, entre aproximadamente 1,0 μM y aproximadamente 5 mM, entre aproximadamente 40 μM y

aproximadamente 3 mM, entre aproximadamente 100 μ M y aproximadamente 1 mM, o cualquier otra concentración en el tejido de glucocorticoesteroide entre aproximadamente 10 μ M y aproximadamente 10 mM.

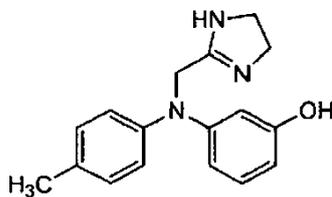
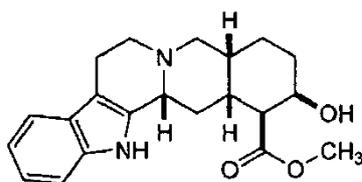
En algunas formas de realización, un glucocorticoesteroide que debe administrarse es budesonida y la cantidad farmacéuticamente eficaz de budesonida es aproximadamente 1,0 a aproximadamente 320 μ g/día, por ejemplo, aproximadamente 80 a aproximadamente 300, aproximadamente 100 a aproximadamente 280, aproximadamente 120 a aproximadamente 260, aproximadamente 140 a aproximadamente 240, aproximadamente 160 a aproximadamente 220, aproximadamente 180 a aproximadamente 200, aproximadamente 185 a aproximadamente 195 μ g/día de budesonida, o cualquier otra dosis de budesonida desde aproximadamente 60 a aproximadamente 320 μ g/día.

En algunas formas de realización, el glucocorticoesteroide que debe administrarse es la fluticasona y la cantidad terapéuticamente eficaz de fluticasona es de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 500 mg/día, por ejemplo, aproximadamente 120 a aproximadamente 480, aproximadamente 140 a aproximadamente 460, aproximadamente 160 a aproximadamente 440, aproximadamente 180 a aproximadamente 420, aproximadamente 200 a aproximadamente 400, aproximadamente 220 a aproximadamente 380, aproximadamente 240 a aproximadamente 360, aproximadamente 260 a aproximadamente 340, aproximadamente 275 a aproximadamente 310, o aproximadamente 290 a aproximadamente 300 μ g/día de fluticasona, o cualquier otra dosis de fluticasona de aproximadamente 100 a aproximadamente 500 μ g/día.

En algunas formas de realización, el glucocorticoesteroide que debe administrarse es la metilprednisolona entre aproximadamente 1,0 μ g/día y 10.000 μ g/día o más, por ejemplo, 50 a 5.000, 100 a 5.000, 500 a 5.000, 700 a 3.000, 800 a 2.500, 1.000 a 2.000, o cualquier otra dosis entre aproximadamente 1,0 y 10.000 μ g/día. En algunas formas de realización el succinato de metilprednisolona puede disolverse en una suspensión de acetato de metilprednisolona en micropartícula cristalinas o administrarse junto con ésta para proporcionar una dosificación inmediata y una dosificación mantenida.

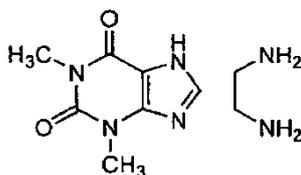
Algunas formas de realización de la composición comprenden otros ingredientes opcionales. Por ejemplo, la órbita del ojo y las acumulaciones de grasa en la órbita en particular en el ajuste de OG contienen grandes cantidades de glucosaminoglucanos compuestos sustancialmente por ácido hialurónico. En algunas situaciones, es favorable degradar este ácido hialurónico, por ejemplo, para mejorar la difusión de la formulación del agonista beta-adrenérgico y glucocorticoesteroides a través de la órbita. Además, la degradación del ácido hialurónico puede reducir aún más la masa de tejido orbitaria y reducir el edema orbitario mejorando de este modo la exoftalmia y la afección OG. Algunas formas de realización de la composición comprenden una enzima tal como la hialuronidasa, (por ejemplo, la hialuronidasa humana recombinante, Hylenex, Halozyme Therapeutics, San Diego, CA), que degrada el ácido hialurónico.

Algunas formas de realización de la composición comprenden uno o más agentes de bloqueo antilipolíticos, por ejemplo, los antagonistas selectivos del receptor alfa-2 tales como fentolamina **12** (n^o Reg. CAS 73-05-2) o yohimbina **13** (n^o Reg. CAS 146-48-5), efectúan bloqueo antilipolítico en la acumulación de grasa local. Los efectos antilipolíticos en los adipocitos y el tejido adiposo suelen observarse en áreas subcutáneas y locales de acumulación de grasa. Por ejemplo, cuando se expone a agonistas beta, la grasa subcutánea tiene una proporción lipolítica menor que la grasa visceral. La exposición de la grasa de la órbita a agentes antilipolíticos de bloqueo puede mejorar la actividad lipolítica en algunas formas de realización.

**12****13**

Algunas formas de realización de la composición comprenden otros agentes adrenérgicos que mejoran el efecto de

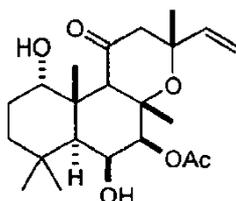
la agonista beta-2 selectivo de acción prolongada. Por ejemplo, la aminofilina **14** (1,3-dimetil-7H-purina-2,6-diona, dietilamina nº Reg. CAS. 317-34-0) y la teofilina **15** (nº Reg. CAS 58-55-9) son agentes lipolíticos que bloquean la descomposición del AMP cíclico.

**14**

5

**15**

10 Otros ingredientes opcionales aumentan las señales secundarias creadas por la unión del agonista beta. Por ejemplo, en algunas formas de realización, la composición comprende forskolina **16** (nº Reg. CAS 66575-29-9), que estimula la adenilato ciclasa, aumentando así la síntesis de AMP cíclico iniciada por el agonista beta de acción prolongada. El aumento de la concentración de AMP cíclico ayuda a mantener la actividad lipolítica.

**16**

15 Algunas formas de realización de la composición comprenden la hormona del crecimiento en combinación con un agonista beta de acción prolongada y un glucocorticoesteroide, que parece estimular la lipólisis.

20 Otras formas de realización de la composición comprenden además uno o más agonistas beta no selectivos, por ejemplo, isoproterenol **4**, y/o agonistas beta-2 selectivos de acción a corto plazo, por ejemplo, la terbutalina. Algunas composiciones comprenden al menos un antagonista alfa-2, o sales o solvatos fisiológicamente aceptables del mismo.

25 Las formas de realización de la composición se formulan para ser administradas por cualquier método adecuado, por ejemplo, como se describe en *Remington: The Science And Practice Of Pharmacy* (21ª ed., Lippincott Williams & Wilkins). Los ejemplos de vías de administración incluyen, pero no se limitan a la parenteral, oral, intraocular, intraorbitaria, periorbitaria, oftálmica, retrobulbar, tópica, intramuscular, transdérmica, sublingual, intranasal o respiratoria. En algunas formas de realización, la composición se formula para inyectables de un área en la que se desea el tratamiento, por ejemplo, en la órbita o el depósito de grasa orbitario.

30 En algunas formas de realización, los agonistas beta, los compuestos para prevenir la desensibilización de los receptores beta, o ambos se formulan como suspensiones de micropartículas cristalinas para prolongar la liberación y por lo tanto además mantener la modulación adrenérgica.

35 Se pueden utilizar excipientes para formulaciones inyectables. Por lo general, el excipiente es oftálmicamente aceptable. En otras palabras, el excipiente no tiene sustancialmente efecto perjudicial a largo plazo o permanente en el ojo al que se administra. Los ejemplos de vehículos oftálmicamente aceptables incluyen agua (agua destilada o desionizada) salina y otros medios acuosos. Los compuestos de la invención son preferentemente solubles en el vehículo que se emplea para su administración, de modo que los compuestos se administran al ojo en forma de una solución. Alternativamente, una suspensión del compuesto o compuestos activos (por ejemplo, una suspensión de micropartículas cristalinas) en un vehículo adecuado también puede emplearse. En algunas formas de realización, uno o más de los agonistas de los receptores beta-2 o glucocorticosteroides se formulan en un vehículo líquido, por ejemplo, en forma de solución, suspensión, gel, y/o emulsión. Algunas formas de realización comprenden cualquier lipófilo adecuado, por ejemplo, aceites modificados (por ejemplo, Cremophor® de BASF), aceite de soja, propilenglicol, polietilenglicol, poliéteres modificados, combinaciones de los mismos, y similares. Algunas formas de

realización comprenden un vehículo con micropartículas y/o nanopartículas para al menos uno de los agonistas de los receptores beta-2 y/o glucocorticoides, como se expone con mayor detalle a continuación. Algunas formas de realización comprenden uno o más vehículos o agentes de liberación lenta o controlada, por ejemplo, microesferas de polímero. Algunas formas de realización comprenden excipientes adecuados para suspensiones estables de partículas micronizadas de los agonistas de los receptores beta-2 o glucocorticosteroides.

Las formulaciones inyectables se administran por cualquier medio incluyendo la utilización de una sola aguja, varias agujas, y/o la utilización de un dispositivo de inyección sin aguja. En algunas formas de realización, una dosis de carga en el tejido de los principios activos formulados en un vehículo adecuado se administra por inyección. En algunas formas de realización, la entrega comprende la inyección de una sola aguja. En algunas formas de realización, la administración comprende la inyección utilizando un conjunto multiaguja, que, en algunas formas de realización, ofrece una amplia dispersión de la formulación en el tejido diana. En algunas formas de realización, las formulaciones se inyectan de manera que permite la dispersión en la capa adecuada de la grasa de la órbita. En algunas formas de realización, la formulación se inyecta en pequeñas alícuotas para reducir el volumen adicional añadido a la órbita y pueden oscilar entre aproximadamente 0,1 ml a aproximadamente 0,5 ml. En algunas formas de realización, el dispositivo de inyección utilizado tiene una aguja curvada para facilitar la administración al espacio retroorbitario o intraconal.

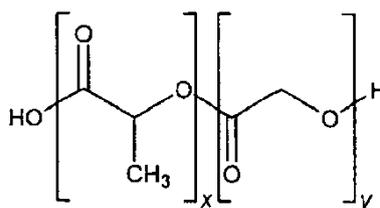
En algunas formas de realización, se administran el agonista beta-2 y el compuesto que reduce la desensibilización, por ejemplo inyectado, en formulaciones separadas, o, alternativamente, se administran por vías separadas (por ejemplo, glucocorticosteroide) por vía oral seguido de inyección de un agonista beta-2 de acción prolongada). En algunas formas de realización, el compuesto que reduce la desensibilización se administra antes del agonista beta-2. En otras formas de realización, el agonista beta-2 se administra antes que el compuesto que reduce la desensibilización.

El intervalo entre la administración del compuesto que reduce la desensibilización y la administración del agonista beta-2 puede ser un intervalo de aproximadamente 5 minutos hasta 7 días, por ejemplo, 30 minutos, 1 hora, 6 horas, 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días o 7 días, o cualquier otro intervalo de tiempo desde aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 7 días. En una realización preferida, el compuesto que reduce la desensibilización (por ejemplo, un corticosteroide) se administra por vía oral hasta aproximadamente 7 días, por ejemplo, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días o 10 días antes de administrar el agonista beta-2 (por ejemplo, por aplicación local de una formulación oftálmica para los ojos).

En otras formas de realización, el agonista beta-2 se administra conjuntamente (por ejemplo, como parte de la misma formulación) con el compuesto que reduce la desensibilización del receptor beta (por ejemplo, un glucocorticosteroide).

En algunas formas de realización, se proporciona una formulación de liberación lenta a un paciente que se va a tratar, que comprende uno o más agentes de liberación lenta o controlada para proporcionar una liberación lenta o controlada de un agonista beta-2 o el compuesto (por ejemplo, un glucocorticosteroide) para inhibir la desensibilización de los receptores beta. En dichas formulaciones, el agonista beta-2, el compuesto para reducir la desensibilización del receptor beta, o ambos están encapsulados en, unidos a, y/o conjugados con el agente o vehículo de liberación lenta o controlada. En algunas formas de realización, las formulaciones biodegradables, biocompatibles, de liberación lenta o controlada proporcionan una actividad local en el tejido durante de semanas a meses. Los agentes o vehículos de liberación lenta o controlada incluyen polímeros, macromoléculas, conjugados de principio activo, hidrogeles, contaminaciones de los mismos, y similares. Algunas formas de realización del vehículo de liberación lenta se dirigen a la grasa, por ejemplo, liposomas. Preferentemente, los materiales de liberación lenta se seleccionan para facilitar la administración de una cantidad sustancialmente igual del principio activo por unidad de tiempo, en particular en el transcurso de por lo menos aproximadamente 3 días, más específicamente por lo menos aproximadamente 4 días, hasta un año o más. Varias rondas de inyecciones de la formulación de liberación lenta se pueden hacer con el tiempo para tratar una sola zona. En algunas formas de realización, la liberación lenta procede de la formulación del agonista beta-2 o un compuesto para reducir la desensibilización de los receptores beta o ambos en forma de una suspensión de micropartículas de fármaco cristalino.

En algunas formas de realización, el agente de liberación lenta comprende un polímero, por ejemplo, polilactidas, poliglicolidas, ácidos poli(lactida glicolidas) polilácticos, ácidos poliglicólicos, polianhídridos, poliortoésteres, polieterésteres, policaprolactonas, poliesteramidas, policarbonatos, policianoacrilatos, poliuretanos, poliacrilatos y mezclas, mezclas o copolímeros de los anteriores, que se utilizan para encapsular, se une, o se conjuga con el/los principio(s) activo(s) (por ejemplo, los agonistas beta y/o glucocorticoides). Algunas formas de realización preferidas de polímeros de liberación lenta comprenden grupos de polietilenglicol con los que se conjuga uno o más de los principios activos. En algunas formas de realización preferidas, el agente de liberación lenta comprende poli (lactida glicolida) (PLGA, poli(ácido láctico-co-glicólico)) copolímero **17**.



17

Algunas formas de realización del agente de liberación lenta comprenden uno o más hidrogeles, incluyendo alginatos modificados. Los ejemplos de alginatos modificados adecuados incluyen los descritos en el documento WO 98/12228. Algunas formas de realización del agente de liberación lenta comprenden un vehículo o excipiente con nanopartículas a base de albúmina.

En algunas formas de realización, una formulación que comprende una solución de prepolímero se inyecta en el sitio del tejido diana, donde se polimeriza después (por ejemplo, por fotopolimerización) o se solidifica (por ejemplo, utilizando materiales gelificantes sensibles a la temperatura) *in vivo*.

En algunas formas de realización, los materiales de liberación controlada tienen características de liberación diseñadas para la aplicación específica de la reducción del tejido. En algunas formas de realización, el agente de liberación lenta o de liberación controlada se forma dentro de micropartículas, tales como microesferas, que se formulan como una solución inyectable y/o gel. En algunas formas de realización, en el intervalo de tamaño de las micropartículas es de aproximadamente 10 μm a aproximadamente 100 μm de diámetro y son generalmente de tamaño uniforme. En algunas formas de realización, las formulaciones que comprenden alginatos y/o poli(lactida-co-glicolida)s **17** se proporcionan en forma de gel inyectable o procesadas en microesferas. En otras formas de realización, el agonista beta-2 o un corticosteroide se forman como micropartículas cristalinas. Otros ejemplos de materiales inyectables biodegradables, biocompatibles adecuados para la formación de micropartículas incluyen quitosano, dextrano, hidroxipatito y silicio.

Las microesferas y/o micropartículas se forman utilizando cualquier procedimiento, incluyendo por evaporación del disolvente y/o polimerización en emulsión. En algunas formas de realización, las microesferas tienen diámetros medios de aproximadamente 5 μm a aproximadamente 60 μm , con preferencia, aproximadamente 20 μm . En algunas formas de realización, PLGA se prepara con proporciones variables de lactida a glicolida en función de la velocidad deseada de liberación del principio o principios activo(s). Debido a que la velocidad de degradación de este copolímero es proporcional a su cristalinidad y a la proporción de glicolida en la formulación, las mezclas no racémicas de la lactida y/o glicolida aumentan la cristalinidad y reducen la velocidad de degradación. Mayores proporciones de glicolida aumentan la velocidad de degradación. En algunas formas de realización, una relación de aproximadamente 65%-75% de lactida a aproximadamente 25%-35% de glicolida proporciona principios activos liberados durante aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 45 días. En otras formas de realización, la relación de lactida a glicolida es de aproximadamente 0:100 a aproximadamente 100:0, proporcionando de este modo otras velocidades de liberación.

Algunas formas de realización de las microesferas o micropartículas comprenden interiores huecos y/o porosos. En algunas formas de realización, las microesferas comprenden una cubierta exterior sólida o porosa.

En algunas formas de realización, las formulaciones que comprenden una carcasa exterior porosa y/o microesferas presentan un perfil de liberación bifásico del principio o principios activo(s) con un arranque de la liberación inicial del principio o principios activo(s), seguido de una liberación lenta asociada a la degradación de las microesferas poliméricas. El arranque inicial carga el tejido con una concentración eficaz inhibidora lipolítica/adipogénesis y antiinflamatoria del principio o principios activo(s), con la consiguiente liberación más lenta que mantiene la concentración deseada. En algunas formas de realización, las estructuras de microesferas diferentes y los perfiles de liberación de los principios activos optimizan el efecto del tratamiento del tejido adiposo de la órbita y los adipocitos y mediante la modulación del receptor adrenérgico y un efecto sobre los glóbulos blancos se infiltran para reducir la inflamación. En algunas formas de realización preferidas, las concentraciones locales de agentes beta-2 adrenérgicos selectivos de acción prolongada en el tejido, tales como salmeterol **1** y/o formoterol **2** en concentraciones de aproximadamente 1,0 pM a aproximadamente 10 μM , por ejemplo, aproximadamente 0,01 μM a aproximadamente 10 μM , aproximadamente 0,1 μM a aproximadamente 5 μM , 0,5 μM a aproximadamente 4 μM , o cualquier otra concentración desde aproximadamente 0,001 μM a aproximadamente 10 μM . Las concentraciones en el tejido locales mantenidas de glucocorticosteroides pueden oscilar entre aproximadamente 0,01 μM y 10 mM.

En algunas formas de realización, uno o más de los principios activos se encapsulan, unen y/o conjugan con el polímero en una proporción de aproximadamente 10-12% en masa en comparación con las microesferas de polímero. La cantidad de principio activo como un porcentaje en masa del vehículo (por ejemplo, micropartículas o microesferas) se denomina en la presente memoria "carga de principio activo". Como se utiliza en la presente memoria, los términos "cargado" y "carga" se refieren a los principios activos unidos sustancialmente encapsulados,

y/o conjugados a un vehículo. En algunas formas de realización, la carga de principio activo es de hasta aproximadamente 75%. Por lo tanto, algunas formulaciones preferidas comprenden uno o más principios beta-2 adrenérgicamente activos, tales como salmeterol **1**, formoterol **2**, y/o sus sales y solvatos fisiológicamente aceptables, cargados en microesferas de polímero en aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg de principio activo por aproximadamente 10 a aproximadamente 200 miligramos de polímero. En algunas formas de realización, una formulación con esta carga de principio activo es suficiente para proporcionar desde aproximadamente 15 días a aproximadamente 45 días de liberación del principio activo a una concentración adecuada para producir lipólisis y/o inhibición de la adipogénesis. Asimismo, los glucocorticosteroides budesonida y fluticasona en formas farmacéuticamente aceptables se pueden cargar desde aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg de principio activo por aproximadamente 10 a aproximadamente 200 mg de polímero para producir un efecto antiinflamatorio.

En algunas formas de realización, dos o más principios activos se cargan en la misma micropartícula, por ejemplo, en un liposoma o PLGA. Así, algunas formas de realización, un polímero que encapsula un glucocorticoesteroide en el compuesto adrenérgico se administra simultáneamente al tejido adiposo. Alternativamente, los dos principios activos se cargan en micropartículas separadas. Los dos tipos de microesferas se mezclan a continuación para obtener una formulación con la relación deseada de agonista beta-receptor y glucocorticoesteroide, a continuación se administran simultáneamente. Alternativamente, los dos tipos de micropartículas se administran sucesivamente.

Las microesferas que comprenden el o los principios activos se ponen en suspensión en aproximadamente 0,5 ml a 10 ml de un vehículo líquido apropiado fisiológicamente aceptable. En algunas formas de realización que utilizan microesferas separadas de los principios activos, las microesferas se mezclan en el vehículo líquido. En otras formas de realización, cada tipo de microesferas se mezclan separadamente con un vehículo líquido. En algunas formas de realización, el vehículo líquido puede contener una formulación farmacéuticamente aceptable (1,0 a 15 U.I./ml) y una cantidad de hialuronidasa. Tal como se utiliza en la presente memoria 1 U.I. de hialuronidasa produce la misma reducción de turbidez en una mezcla de ácido hialurónico y albúmina que 1 U.I. (Unidad Internacional) de una preparación de hialuronidasa convencional. Véase, por ejemplo, Mathews *et al.* (1966), *Methods Enzymol.* 8, 654-662. En algunas formas de realización, la suspensión de microesferas se inyecta entonces por vía orbitaria o en el espacio retrobulbar en alícuotas de 0,1 a 0,5 ml. Alternativamente, las inyecciones como las descritas anteriormente se realizan por separado y de forma sucesiva en los mismos puntos utilizando dos formulaciones de microesferas que encapsulan cada principio activo.

En algunas formas de realización, el glucocorticoesteroide, tal como dexametasona **6**, budesonida **8** y/o propionato de fluticasona **7**, también actúan como agentes antiinflamatorios reduciendo de este modo la inflamación producida por la administración de la formulación, por ejemplo, producida por polímeros, microesferas poliméricas y/o liposomas en una formulación de liberación lenta.

Las microesferas de PLGA **15** encapsulan compuestos hidrófobos más fácilmente que los compuestos hidrófilos. Para aumentar la carga de principios activos hidrófilos, en algunas formas de realización, las microesferas se modifican con unidades de polietilenglicol, como se expuso anteriormente. Las microesferas de determinados tamaños no se absorben sustancialmente en la sangre o eliminadas por la linfa, proporcionando con ello la liberación del principio o principios activo(s) en el punto deseado. Por ejemplo, en algunas formas de realización, las microesferas tienen aproximadamente 20 µm a aproximadamente 200 µm de diámetro. En algunas formas de realización, el tamaño de la microesfera también afecta al perfil de liberación del principio principio(s) activo(s) en el tejido. En general, microesferas más grandes tienden a proporcionar un perfil de liberación más prolongado y más uniforme.

En un forma de realización ilustrativa, una formulación de liberación lenta comprende aproximadamente 0,5 miligramos a aproximadamente 7,5 mg (por ejemplo, aproximadamente 0,7, 1, 1,5, 2,0, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, o cualquier otra cantidad desde aproximadamente 0,5 mg a 7,5 mg) de salmeterol **1** y/o formoterol **2**, y aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 7,5 mg (por ejemplo, aproximadamente 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, o cualquier otra cantidad de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 7,5 mg) de dexametasona **6**, propionato de fluticasona **7** y/o budesonida **8** encapsulada en aproximadamente 100 miligramos de microesferas de copolímero polilactida glicolida (PLGA) **15** en una proporción de aproximadamente 70 lactido:30 glicolida. La cantidad de cada principio activo en la formulación de liberación lenta depende del número de días de liberación controlada/lenta requeridos (por ejemplo, aproximadamente 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días o alrededor de 10 días). En algunas formas de realización, la relación de copolímero y la encapsulación de principio activo libera hasta aproximadamente 1,0 µg por día (por ejemplo, aproximadamente 0,02, 0,04, 0,06, 0,07, 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8, o cualquier otra cantidad desde aproximadamente 0,02 µg a aproximadamente 100,0 µg por día) de salmeterol **1** y/o hasta aproximadamente 0,5 µg (por ejemplo, aproximadamente 0,02, 0,04, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, o cualquier otra cantidad de aproximadamente 0,02 µg a aproximadamente 0,5 µg al día) de formoterol, y de hasta 5 µg al día (por ejemplo, aproximadamente 0,2, 0,4, 0,5, 0,7, 0,9, 1,0, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, o cualquier otra cantidad desde aproximadamente 0,2 a aproximadamente 5 µg al día) de fluticasona y/o budesonida **6** por aproximadamente 1 mg de copolímero durante hasta aproximadamente 30 días. En otra forma de realización ilustrativa, la formulación de liberación lenta que debe administrarse comprende acetato de metilprednisolona en forma de suspensión de micropartículas cristalinas con un agonista beta-2 adrenérgico. El agonista beta-2

adrenérgico se pueden formular en solución o también puede formularse en forma de suspensión de micropartículas cristalinas. En algunas formas de realización, la formulación de liberación lenta también comprende succinato de metilprednisolona soluble a fin de proporcionar efectos inmediatos (debido a la liberación rápida) además del efecto prolongado de la forma cristalina de acetato de metilprednisolona.

5 En algunas formas de realización, uno o más agonistas beta-2 y metilprednisolona se proporcionan mezclados antes de la administración (por ejemplo, inyección). En otras formas de realización, uno o más agonistas beta-2 y metilprednisolona se mezclan en el momento de administración (por ejemplo, inyección).

10 En algunas formas de realización, una formulación de corticosteroides de liberación lenta seleccionada (por ejemplo, suspensión de metilprednisolona cristalina, solución de metilprednisolona o combinación de suspensión cristalina y solución) se administra sola hasta aproximadamente 7 días (por ejemplo, por lo menos 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, o cualquier otro espacio de tiempo entre aproximadamente 12 horas y aproximadamente 7 días) antes que el agonista beta-2 permita la regulación por incremento del receptor beta.

15 En algunas formas de realización, al paciente que debe tratarse, se le administra una formulación de liberación no prolongada. En algunas formas de realización, la formulación de liberación no prolongada, después de una sola dosis, proporciona actividad de uno o más agonistas beta-2 selectivos de acción prolongada durante aproximadamente cuatro horas a aproximadamente 24 horas, por ejemplo, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 16 horas, 18 horas, 21 horas, o cualquier otra duración de la actividad del agonista beta-2 de aproximadamente cuatro horas a aproximadamente 24 horas.

20 En otras formas de realización, al paciente que debe tratarse, se le administra una formulación de liberación no prolongada que comprende agonistas beta-2 selectivos de acción a corto plazo, que tienen actividades que duran menos de aproximadamente cuatro horas (por ejemplo, alrededor de 3,5 horas, 3 horas, 2,5 horas, 2 horas, 1,5 horas, 1,3 horas, aproximadamente 1 hora, 0,5 horas, o cualquier otra duración de menos de aproximadamente cuatro horas a aproximadamente 0,5 horas).

25 En una forma de realización ilustrativa, una formulación inyectable de liberación no prolongada comprende de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 250 µg (por ejemplo, 105, 110, 125, 150, 175, 190, 200, 210, 225, o cualquier otra cantidad de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 250 µg) de xinafoato de salmeterol y de aproximadamente 500 µg a aproximadamente 1000 µg (por ejemplo, 600, 650, 700, 730, 740, 800, 825, 875, 900, 930, 950, o cualquier otra cantidad desde aproximadamente 500 µg a aproximadamente 1.000 µg) de propionato de fluticasona formulado en un volumen de hasta aproximadamente 10 ml (por ejemplo, 0,3, 0,5, 0,7, 1,1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o cualquier otro volumen desde aproximadamente 0,3 a aproximadamente 10 ml) de un excipiente compatible con la administración en la órbita. La concentración de excipiente puede mantenerse por debajo de 1% (por ejemplo, 0,05%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,8%, o cualquier otra concentración de aproximadamente 0,05% a menos del 1%).

30 En algunas formas de realización, las formulaciones descritas en la presente memoria se administran por vía transocular utilizando cualquier procedimiento adecuado, por ejemplo, como gotas aplicadas por vía tópica o a mediante un depósito colocado bajo un párpado.

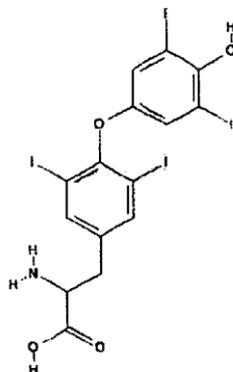
35 En otras formas de realización, donde la formulación que debe administrarse comprende los agonistas beta-2 de acción prolongada, tales como formoterol **2**, salmeterol **1** o bambuterol **3**, y glucocorticosteroides la aplicación tópica es adecuada. En algunas formas de realización, las formulaciones de liberación lenta administrables por vía transdérmica incluyen una formulación de polímero con principio activo biodegradable, biocompatible o una formulación de liposomas, como se expuso anteriormente.

40 En la presente memoria se describe un procedimiento para el tratamiento de la enfermedad ocular tiroidea por administración local de una formulación que comprende uno o más agentes inmunosupresores (por ejemplo, rapamicina, sirólimo o everólimo) para inhibir la proliferación de fibroblastos y la conversión de los preadipocitos en adipocitos. En algunos casos, los agentes inmunosupresores se administran en una formulación de liberación lenta (por ejemplo, una formulación de liberación lenta) que comprende uno o más agentes inmunosupresores en una suspensión de micropartículas cristalinas. En otros casos, la formulación de liberación lenta comprende micropartículas poliméricas (como se describe en la presente memoria) cargadas con uno o más inmunosupresores. La administración de la formulación inmunosupresora de liberación lenta puede ser por inyección orbitaria, periorbitaria o retrobulbar.

45 En la presente memoria se describe un procedimiento para el tratamiento de la enfermedad ocular tiroidea por administración local de una formulación que comprende uno o más agentes inmunosupresores (por ejemplo, rapamicina, sirólimo o everólimo) para inhibir la proliferación de fibroblastos y la conversión de los preadipocitos en adipocitos. En algunos casos, los agentes inmunosupresores se administran en una formulación de liberación lenta (por ejemplo, una formulación de liberación lenta) que comprende uno o más agentes inmunosupresores en una suspensión de micropartículas cristalinas. En otros casos, la formulación de liberación lenta comprende micropartículas poliméricas (como se describe en la presente memoria) cargadas con uno o más inmunosupresores. La administración de la formulación inmunosupresora de liberación lenta puede ser por inyección orbitaria, periorbitaria o retrobulbar.

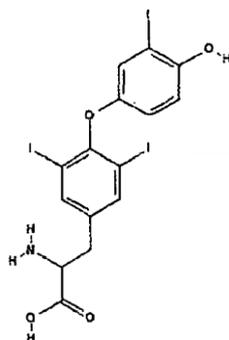
50 La hormona tiroidea puede estar incluida en una de las formulaciones anteriores para regular por incremento los receptores beta, o aumentar el número de receptores beta en la superficie celular, y regular por disminución los receptores alfa, o disminuir el número de receptores alfa en la superficie de la célula. Tanto la tiroxina (T4) 18 como la triyodotironina (T3) 19 y los estereoisómeros de estas hormonas pueden utilizarse para este propósito. La levotiroxina es un estereoisómero de la tiroxina, que puede tener una vida media más larga. Estas hormonas tiroideas pueden combinarse con agonistas beta y administrarse por inyección orbitaria, periorbitaria o retrobulbar. Una o más hormonas tiroideas también pueden combinarse con agonistas beta en una formulación de

liberación lenta, tales como un polímero o liposoma, como se ha descrito anteriormente, para reducir la frecuencia de administración. Las T3 y T4 pueden combinarse con agonistas beta 2 selectivos de acción prolongada en microesferas poliméricas de polilactida o poli lactida/glicolida para inyección y liberación lenta.



18

5



19

10

En algunas formas de realización, las formulaciones descritas anteriormente incluyen además uno o más flavonoides del grupo de la flavona y la flavinona (por ejemplo, quercetina y fisetina), que actúan como inhibidores de la AMPc fosfodiesterasa y por lo tanto mejoran la señalización beta-adrenérgica.

15 Ejemplos

Los siguientes ejemplos específicos deben considerarse como meramente ilustrativos, y no limitativos del resto de la descripción en modo alguno. Sin más elaboración, se cree que un experto en la materia puede utilizar, basándose en la descripción en la presente memoria, la presente invención en toda su extensión. Todas las publicaciones citadas en la presente memoria se incorporan como referencia en su totalidad. Cuando se hace referencia a una URL u otro identificador o dirección, debe apreciarse que estos identificadores pueden cambiar y determinada información en Internet puede resultar inestable, pero se puede encontrar información equivalente buscando en el internet. La referencia a esto prueba la disponibilidad y la difusión pública de dicha información.

25 Ejemplo 1: Ensayo de lipólisis *in vitro* de adipocitos de rata mediante agonistas beta y glucocorticosteroides

En el ensayo de la lipólisis *in vitro*, se detectó glicerol en medios de cultivo celular mediante una medición espectrofotométrica después de la oxidación química con peróxido de hidrógeno. El glicerol se midió durante un período de tres horas. Los niveles de la lipólisis en los adipocitos humanos cultivados se determinaron después de la exposición a un agonista beta solo, un glucocorticosteroide solo, o la combinación de los dos para uno o más períodos de preincubación como se describe con mayor detalle a continuación.

30

Aislamiento de preadipocitos y diferenciación en adipocitos:

En el ensayo de lipólisis se utilizaron adipocitos subcutáneos humanos. Se recogió tejido adiposo procedente de liposucción o lipectomía y se aislaron preadipocitos como se indica a continuación. En resumen, se picó tejido adiposo y se incubó a 37°C en tampón de bicarbonato Krebs-Ringer que contenía albúmina sérica bovina al 1% y colagenasa al 0,1% en una cámara de agitación rica en oxígeno (5% de CO₂; 75 emboladas/min) durante 1 hora. La suspensión se filtró a través de una malla de nilón de 400 μm y se centrifugó durante 1 min a 100 g. Los

35

preadipocitos en el sobrenadante se lavaron dos veces y a continuación se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de células/pocillo. Los preadipocitos se cultivaron en medio de mantenimiento durante siete días, a medida que se diferenciaban en adipocitos.

5 **Reactivos**

Tampón de lavado (tampón de Krebs Ringer (KRB) sin suero; [Sigma, K4002-10X1L]) - almacenado a 4°C

Tampón de análisis (KRB con 1% de FBS; [FBS de Gibco, 26140-079]) - almacenado a 4°C

10 Medio de mantenimiento almacenado a 4°C

Reactivo de glicerol A (Zen-Bio, RGTL-15 o RGTL-40) - después de redisolución, almacenar a 4°C protegido de la luz

Solución madre de glicerol (1 M), preparada diluyendo glicerol [Sigma G2025-500ML] en tampón de lavado (sin suero)-almacenada a-20°C.

15 Ensayo de lipólisis:

El medio se retiró de cada pocillo 21 horas antes del ensayo de lipólisis, y se reemplazó por 75 µl de medio de mantenimiento que contiene concentraciones apropiadas de fármaco o DMSO (vehículo) (véase el apartado diseño experimental a continuación). Cada tratamiento con el fármaco de prueba o de control se aplicó a 8 pocillos/grupo (12 grupos de tratamiento por placa de 96 pocillos). Cada pocillo se lavó dos veces 3 horas antes del ensayo de lipólisis, con tampón de lavado (200 µl/lavado), lleno con soluciones de ensayo o de control preparadas en tampón de análisis (75 µl/pocillo) y se incubaron a continuación durante tres horas, es decir, hasta la medición del contenido de glicerol en el tampón de ensayo. Para algunos grupos, se añadió un fármaco sólo durante el período de incubación de tres horas (véanse los grupos experimental y de referencia a continuación). Una hora antes del ensayo, siete patrones de glicerol que oscilan entre 200 µM a 3,125 µM se prepararon por dilución en serie en tampón de ensayo.

30 El contenido en glicerol del tampón de análisis de cada pocillo después de la incubación se utilizó como un índice para la lipólisis, donde un incremento en glicerol indicaba lipólisis. Las concentraciones de glicerol se analizaron por colorimetría con un kit analítico de glicerol comercial (Randox Laboratory, Reino Unido) y se cuantificó por comparación con una curva patrón de dilución en serie de glicerol (3 µM - 200 µM). Las concentraciones de glicerol para cada pocillo se normalizaron a la densidad celular.

35 Diseño experimental:

En cada uno de los siguientes grupos de control o experimentales n = 8 correspondiente a las mediciones de glicerol para 8 pocillos de una placa de cultivo celular de 96 pocillos.

Tabla 1			
Resumen del diseño experimental del ensayo de lipólisis <i>in vitro</i>			
Grupo(s)	18 horas de incubación	3 horas de incubación	Resultados mostrados en la Fig.
Experimento 1			
1 (referencia negativa)	0,1% SODM	0,1% SODM	2*
2-11	0,1% SODM	Formoterol (10^{-13} M - 10^{-4} M)	2
12 (referencia positiva)	0,1% SODM	Isoproterenol 10^{-6} M	2
Experimento 2			
13 (referencia negativa)	0,1% SODM	0,1% SODM	3*
14-18	0,1% SODM	Salmeterol (10^{-8} M - 10^{-4} M)	3
19 (referencia positiva)	0,1% SODM	Isoproterenol 10^{-6} M	3
Experimento 3			
20 (referencia negativa)	0,1% SODM	0,1% SODM	4*
21-22	0,1% SODM	Budenosida 10^{-10} M y 10^{-7} M	4
23-26	Budenosida (10^{-12} M - 10^{-4} M)	Budenosida (10^{-12} M – 10^{-6} M)	4

27 (referencia positiva)	0,1% SODM	Isoproterenol 10^{-6} M	4
Experimento 4			
28 (referencia negativa)	0,1% SODM	0,1% SODM	5*
29	Salmeterol 10^{-6} M	Salmeterol 10^{-6} M	5
30	Salmeterol 10^{-6} M + Budesonida 10^{-6} M	Salmeterol 10^{-6} M + Budesonida 10^{-6} M	5
31	Salmeterol 10^{-8} M	Salmeterol 10^{-8} M	5
32	Salmeterol 10^{-8} M + Budesonida 10^{-6} M	Salmeterol 10^{-8} M + Budesonida 10^{-6} M	5
33 (referencia positiva)	Isoproterenol 10^{-6} M	Isoproterenol 10^{-6} M	5
* Todos los grupos se representan por duplicado o % de diferencia relativa con los datos del grupo de referencia negativa.			

- 5 Como se muestra en la Fig. 2, el agonista del receptor beta-2 adrenérgico de acción prolongada formoterol produjo un aumento dependiente de la dosis en la lipólisis de más de seis veces después de una incubación de tres horas, lo que, para concentraciones de 10^{-6} M y superiores, fue mayor que la observada para isoproterenol. Del mismo modo, el agonista del receptor beta-2 adrenérgico de acción prolongada salmeterol también produjo un aumento dependiente de la dosis en la lipólisis después de una incubación de tres horas, aunque el efecto (ligeramente mayor que el doble del aumento en la lipólisis) no fue tan fuerte como la observada para el formoterol. La lipólisis producida por el salmeterol fue igual o menor que la observada para el isoproterenol.
- 10 Como se muestra en la FIG. 3, el glucocorticosteroide budesonida produjo un ligero aumento (hasta aproximadamente 1,5 veces) en la lipólisis después de tres horas, que fue menor que el observado para el isoproterenol (aproximadamente 2,5 veces). Por el contrario, la incubación con budesonida sola durante 18 horas en realidad produjo una ligera supresión de la lipólisis *in vitro*.
- 15 La incubación de los adipocitos con salmeterol (10^{-6} M) durante 18 horas disminuyó la lipólisis (Fig. 4). Asimismo, el tratamiento con isoproterenol durante 18 horas produjo una disminución de la lipólisis. Sin embargo, cuando salmeterol se combinó con budesonida durante un período de incubación de 18 horas, se observó un aumento de la lipólisis (Fig. 4).
- 20 Basándose en estos datos, los inventores llegaron a la conclusión que el formoterol y el salmeterol provocan eficazmente la lipólisis en adipocitos cultivados durante un período de tres horas. Sin embargo, en realidad la lipólisis disminuye cuando el salmeterol se utiliza durante 18 horas, probablemente debido a la desensibilización o regulación por disminución del receptor. Además, en presencia del glucocorticosteroide budesonida, salmeterol es capaz de provocar la lipólisis incluso después de 18 horas. De este modo, budesonida se puede utilizar para mantener o restablecer la capacidad de un agonista beta-2 adrenérgico para provocar la lipólisis durante largos períodos, probablemente al evitar la regulación por disminución de los receptores beta-2 adrenérgicos.
- 25

Ejemplo 2: Inhibición de la adipogénesis por agonistas beta y glucocorticosteroides

- 30 Un ejemplo no limitativo de dicha inhibición de la adipogénesis es el siguiente:

Cultivo celular:

- 35 La estirpe celular de preadipocitos 3T3-L1 (ATCC, Manassas, VA) se cultiva en placas a razón de 4×10^5 células por matraz T75 ml en Medio de Eagle modificado con Dulbecco (MEMD) con 10% de suero de ternera normal y 1% de antibióticos penicilina/estreptomycin. Las células se incuban a 37°C , 5% de CO_2 . Después de tres días, las células se desprenden con tripsina, se hace el recuento y se vuelven a poner en suspensión en placas de 24 pocillos con 6×10^5 células por pocillo en 2 ml de medio. Después de 1 a 2 días, las células están cerca de la confluencia y listas para la adipogénesis.
- 40

Materiales de adipogénesis:

- Medio de inicio de adipogénesis: MEMD/suero fetal bovino al 10%/IBMX 0,5 mM/1 μM dexametasona
 Medio de evolución de adipogénesis: MEMD/suero fetal bovino al 10%/10 $\mu\text{g/ml}$ de insulina
 Medio de mantenimiento de adipogénesis: MEMD/suero fetal bovino al 10%
 Media de referencia negativa: MEMD/suero normal de ternero al 10%
- 45

Protocolo de adipogénesis:

5 Se eliminan 1,8 ml de medio de los pocillos y se añaden 2 ml de medio de inicio de adipogénesis por pocillo. Se incuban las placas 48 horas a 37°C, 5% de CO₂, se retiran 2 ml de medio de evolución de adipogénesis por pocillo. Las placas se incuban 48 horas a 37°C, 5% de CO₂. Se retiran 2 ml de medio y se añaden 2 ml de medio de mantenimiento de adipogénesis por pocillo. Las placas se incuban durante al menos 48 horas a 37°C, 5% de CO₂. Gotitas de lípidos intracelulares se acumulan en las células durante por lo menos 5 días.

10 *Diseño del experimento:*

Antes de la adipogénesis, las células de preadipocitos 3T3-L1 se tratan previamente en diferentes etapas con agonista un beta 2 y/o glucocorticosteroides. 24 h antes de la adición de medio de inicio de adipogénesis, las células se tratan con los siguientes:

15

Grupo 1: sin tratamiento

Grupo 2: Salmeterol 10⁻¹⁰ MGrupo 3: Salmeterol 10⁻⁸ MGrupo 4: Salmeterol 10⁻⁶ M

20

Grupo 5: Salmeterol 10⁻⁴ MGrupo 6: Salmeterol 10⁻¹⁰ M + budesonida 10⁻⁶ MGrupo 7: Salmeterol 10⁻⁸ M + budesonida 10⁻⁶ MGrupo 8: Salmeterol 10⁻⁶ M + budesonida 10⁻⁶ MGrupo 9: Salmeterol 10⁻⁴ M + budesonida 10⁻⁶ M

25

Grupo 10: Budesonida 10⁻⁶ MGrupo 11: Budesonida 10⁻¹⁰ MGrupo 12: Capsaicina 10⁻⁶ M, inhibidor conocido de la adipogénesis

30 Otro conjunto de células se trata con el grupo anterior de 24 horas antes de la adición de medio de evolución de adipogénesis y otro conjunto se trata 24 horas antes Medio de Mantenimiento de la adipogénesis. En el conjunto de referencia, las células se tratan con el grupo anterior 24 horas antes de la adición de medio de control negativo. Otros dos conjuntos de 12 grupos sustituyen salmeterol por el agonista beta 2 de acción prolongada, formoterol, en un conjunto y un agonista beta 2 de acción a corto plazo, albuterol, en el otro conjunto.

35 *Visualización de lípidos intracelulares:*

Las células se recogen 5 días después de la adición de medio de mantenimiento de adipogénesis. Se elimina el medio celular y las placas se lavan dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS). Se añade 0,5 ml de solución de aceite rojo O (aceite rojo O al 0,36% en isopropanol al 60%) por pocillo y se incuban las placas 15 minutos a temperatura ambiente. La solución de tinción se elimina y los pocillos se lavan tres veces con isopropanol al 60%. Las placas teñidas se fotografían a continuación y/o se escanean para el análisis visual. Los lípidos se tiñen de rojo.

45 *Cuantificación de lípidos:*

Se añaden 0,25 ml de solución de extracción de colorantes (Chemicon International) a los pocillos teñidos. Las placas se colocan en un agitador orbital o basculante durante 15 a 30 min. La solución con el colorante extraído se transfiere a una cubeta y se lee la absorbancia en un espectrofotómetro a 520 nm.

50 **Ejemplo 3: Agonistas beta-2 en combinación con glucocorticosteroides disminuyen la masa de grasa en la almohadilla del epidídimo**

Los autores intentaron determinar si un glucocorticoesteroide podría reducir la grasa *in vivo* de manera consistente con sus datos de lipólisis *in vitro* como se describe en el ejemplo 1. Con este objeto, los autores midieron la masa de grasa en la almohadilla del epidídimo en las ratas tratadas con el agonista beta-2 adrenérgico de acción prolongada formoterol solo y en combinación con budesonida.

Se anestesiaron ratas Sprague Dawley macho (~500 g) bajo 4% de isoflurano utilizando un vaporizador Matrx 3000. Se inyectó a continuación a los animales, según se relacionan en la Tabla 2 a continuación, 5 mm en el extremo anterior y posterior de la almohadilla de grasa con 0,4 ml de vehículo (PEG al 2%); formoterol (3,48 µg/ml; dosis = 1,39 µg) en el vehículo; o formoterol (3,48 µg/ml) más budesonida (10 µg/ml; dosis = 1,39 µg de formoterol y 4 µg de budesonida) en el vehículo. Cada animal recibió un tratamiento farmacéutico en un costado y el tratamiento con el vehículo (PEG al 2%) en el costado contralateral; cada grupo se contrarrestó de derecha a izquierda con respecto al fármaco y al vehículo (véase la Tabla 2).

65

Grupo	ID del animal	Almohadilla de grasa del epidídimo derecho	Almohadilla de grasa del epidídimo izquierdo
1	1	<u>Formoterol solo</u>	Vehículo
	2	<u>Formoterol solo</u>	Vehículo
	3	Vehículo	<u>Formoterol solo</u>
	4	Vehículo	<u>Formoterol solo</u>
2	5	<u>Formoterol + Budesonida</u>	Vehículo
	6	<u>Formoterol + Budesonida</u>	Vehículo
	7	Vehículo	<u>Formoterol + Budesonida</u>
	8	Vehículo	<u>Formoterol + Budesonida</u>

- 5 Las inyecciones se repitieron 24 y 48 horas más tarde, para un total de tres inyecciones. Veinticuatro horas después de la inyección final, se practicó la eutanasia a los animales mediante una sobredosis de pentobarbital (150 mg/kg) inyectada por vía ip, y las almohadillas izquierda y derecha de grasa del epidídimo de cada animal se recogieron y se pesaron (resultados se muestran en la Tabla 3 y la fig. 6). La prueba de la t para datos emparejados y la prueba de la t normal se utilizó para análisis estadístico.

	Grupo	
	1	2
Animales 1 y 5	-0,036	-0,599
Animales 2 y 6	-0,138	-0,115
Animales 3 y 7	0,118	-0,574
Animales 4 y 8	0,166	-0,124
Media	0,028	-0,353
D.E.	0,140	0,270

- 10 Los datos del tratamiento con formoterol solo y formoterol + budesonida mostraron en la tabla 3 se analizaron con una prueba de la t de Student de datos emparejados, cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.

Grupos	Valor p de dos colas
Grupo 1 (formoterol) frente al vehículo	0,63
Grupo 2 (formoterol + budesonida) frente al	0,0792

vehículo	
----------	--

Como se muestra en la Tabla 4, los animales del grupo 1 (tratados con formoterol solo) mostraban diferencias y variabilidad coherentes con la referencia sin tratamiento previa. El efecto promedio del tratamiento para formoterol solo fue + 0,028 g ± 0,140 g. El análisis estadístico arrojó un valor p de 0,63 coherente con ninguna tendencia para un efecto del tratamiento. Por otra parte, los animales del grupo 2 (tratados con formoterol + budesonida) presentaban un efecto del tratamiento. El efecto promedio del tratamiento fue de -0,353 ± 0,270 con un valor p = 0,079.

Los autores realizaron también un análisis estadístico (prueba de la t de Student) para diferencias significativas entre el efecto de los tratamientos farmacológicos individual y de politerapia, y también para una diferencia significativa entre la politerapia frente a los animales de referencia sin tratar. Los resultados de estos análisis estadísticos se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Análisis estadístico de las diferencias en los efectos de formoterol solo frente a formoterol + budesonida; y formoterol + budesonida frente a sin tratamiento	
Comparación (Diferencia media en peso de almohadilla de grasa del Epi)	Valor p de dos colas
Grupo 2 (formoterol + budesonida) frente al Grupo 1 (formoterol solo)	0,05
Grupo 2 frente a sin tratamiento	0,0131

Como se muestra en la Tabla 5 y la fig. 6, no existía diferencia estadística entre el grupo 2 y el grupo 1 (p = 0,05). Existía una diferencia significativa en la reducción media de la masa de grasa en la almohadilla en el Grupo 2 frente a los animales sin tratamiento con una p = 0,013.

En un experimento de seguimiento, se examinó la capacidad de formoterol más budesonida para reducir la masa de grasa en la almohadilla en el ensayo descrito anteriormente. Como se muestra en la Fig. 7, la administración de una combinación de dosis de 1,4 µg/día de formoterol + 4,0 µg/día de budesonida produjo una diferencia significativa en la diferencia media de la masa en el epidídimo en el grupo tratado frente a grupo no tratado (p = 0,01). Del mismo modo, incluso en una combinación de dosis menor (0,7 µg/día de formoterol + 2,0 µg/día de budesonida, conseguida en la dosificación cada dos días), la diferencia entre los animales de referencia tratados y no tratados con la combinación fue significativa (p = 0,04).

Basándose en estos datos y su análisis, se concluyó que una combinación de un agonista beta-2 de acción prolongada (por ejemplo, formoterol) y un glucocorticosteroide (por ejemplo, budesonida), es probable que sea eficaz para provocar la lipólisis y la reducción de grasa *in vivo*.

Ejemplo 4: Ensayo clínico para el tratamiento de oftalmopatía de Graves con composiciones que comprenden agonista beta y glucocorticosteroides

Un ejemplo no limitativo de dicho ensayo clínico para el tratamiento de oftalmopatía de Graves es el siguiente:

Selección de pacientes:

Los pacientes deben tener 18 años de edad o más y no tener hipersensibilidad a los fármacos administrados. Ellos son diagnosticados con síntomas de exoftalmia asociados a la oftalmopatía de Graves por ecografía, exoftalmometría, RMI o tomografía computarizada. En particular, se seleccionan pacientes con exoftalmia unilateral o bilateral de 0,5 mm o 3 mm o más, con o sin otros síntomas. Los pacientes también pueden presentar diplopía, limitación de los movimientos oculares en posiciones extremas, y la restricción evidente de movimientos, úlceras corneales, dolor, deformidad estética y poca calidad de vida. Los pacientes pueden haberse sometido a tiroidectomía por hipertiroidismo. No deben utilizarse otras terapias de esteroides para el tratamiento del hipertiroidismo. Todos los estudios deben llevarse a cabo con la aprobación del comité de ética institucional y el consentimiento del paciente.

Diseño del estudio:

Prueba 1: Este es un estudio multicéntrico, con aumento progresivo de la dosis de la politerapia de salmeterol, un agonista beta 2 de acción prolongada con la budesonida, un glucocorticoide. Los pacientes reciben una administración por inyección de una composición parenteral del fármaco a diario. Los pacientes que no consiguen mejoría de la exoftalmia o respuesta parcial o completa, sino que presenta la enfermedad estable después de 1

semana de terapia recibirán 1 semana más de terapia a una dosis mayor que la que se asignó originalmente. Las cohortes de 3 a 6 pacientes reciben dosis crecientes de fármaco de la combinación hasta que se determina la dosis máxima tolerada (DMT). La DMT se define como la dosis anterior a aquella en la que 2 de 3 ó 2 de 6 pacientes experimentan toxicidad restrictiva por la dosis.

5 Prueba 2: Este es un estudio multicéntrico al azar. La duración del estudio es de 60 días. Los pacientes se asignan al azar a 1 de 18 grupos de tratamiento. En el grupo 1, los pacientes reciben salmeterol o formoterol solo todos los días a la DMT. En el grupo 2, los pacientes reciben budesonida sola todos los días a la DMT. En el grupo 3, los
10 pacientes reciben simultáneamente salmeterol y budesonida en DMT. En el grupo 4, los pacientes reciben salmeterol o formoterol a diario, y budesonida cada dos días. En el grupo 5, los pacientes reciben budesonida a diario, y salmeterol o formoterol cada dos días. En el grupo 6, los pacientes reciben la budesonida los días impares y salmeterol los días pares. Los grupos 7-12 tienen el mismo régimen de dosificación que los grupos 1 a 6, excepto que la dosis es un cuarto de la DMT. Los grupos 13 a 18 también tienen el mismo régimen de dosificación que los
15 grupos 1 a 6, excepto que la dosis es una décima parte de la DMT. Además de los grupos de tratamiento, un grupo de referencia se deja sin tratar.

Evaluación del punto final:

20 Se evalúan los pacientes para la reducción de la exoftalmia y la disminución de volumen grasa de la órbita y los músculos extraoculares. Se evalúa también a la conclusión del estudio la mejoría en el cierre de los párpados y el movimiento ocular. Una reducción del 20% en 60 días se supone como un resultado positivo.

Ejemplo 5: Composiciones farmacéuticas

25 Los ejemplos no limitativos de dichas composiciones farmacéuticas son las siguientes:

Composiciones parenterales

30 **Ejemplo 5A.** Para preparar una composición farmacéutica parenteral adecuada para administración por inyección, aproximadamente 100 µg de una sal soluble en agua de un formoterol y aproximadamente 3 mg de cetotifeno se disuelve en DMSO y luego se mezclan con 10 ml de solución salina estéril al 0,9%. La mezcla se incorpora en una forma de dosis unitaria adecuada para administración por inyección.

35 **Ejemplo 5B.** Para preparar una composición farmacéutica parenteral adecuada para administración por inyección, aproximadamente 50 µg de una sal soluble en agua de un salmeterol y aproximadamente 100 µg de propionato de fluticasona se disuelven en DMSO y luego se mezclan con 10 ml de solución salina estéril al 0,9% que contiene aproximadamente 20% v/v de PEG-400. Se añade hialuronidasa a la mezcla a una concentración final de 8 U.I./ml. La mezcla resultante se incorpora en una forma de dosis unitaria adecuada para administración por
40 inyección.

Ejemplo 5C. Para preparar una composición farmacéutica parenteral adecuada para administración por inyección, de aproximadamente 50 a 100 µg de una sal soluble en agua de un salmeterol se disuelven en DMSO y se mezclan a continuación con 10 ml de solución salina estéril al 0,9% que contiene aproximadamente 20% v/v de PEG-400. La mezcla se incorpora en una forma de dosificación unitaria adecuada para administración por inyección.
45

Ejemplo 5D. Para preparar una composición farmacéutica parenteral adecuada para administración por inyección, aproximadamente 50 µg de una sal soluble en agua de propionato de fluticasona se disuelven en DMSO y luego se mezclan con 10 ml de solución salina estéril al 0,9%. Se añade hialuronidasa a la mezcla a una concentración final 10 U.I./ml. La mezcla resultante se incorpora en una forma de dosificación unitaria adecuada para administración por inyección.
50

Composiciones tópicas en gel

55 **Ejemplo 5E.** Para preparar una composición farmacéutica tópica en gel, se mezclan aproximadamente 100 mg de salmeterol y aproximadamente 100 mg de prednisolona con 1,75 g de hidroxipropilcelulosa, 10 ml de propilenglicol, 10 ml de miristato de isopropilo y 100 ml de alcohol purificado USP. La mezcla de gel resultante se incorpora luego en recipientes, tales como tubos, que son adecuadas para la administración tópica.

60 **Ejemplo 5F.** Para preparar una composición farmacéutica tópica en gel, se mezclan aproximadamente 100 mg de formoterol y aproximadamente 100 mg de budesonida con aproximadamente 10 mg de hialuronidasa, 1,75 g de hidroxipropilcelulosa, 10 ml de propilenglicol, 10 ml de miristato de isopropilo y 100 ml de alcohol purificado USP. La mezcla de gel resultante se incorpora luego en recipientes, tales como tubos, que son adecuadas para la administración tópica.

65 **Ejemplo 5G.** Para preparar una composición farmacéutica tópica en gel, se mezclan aproximadamente 100 mg de salmeterol con aproximadamente 10 ml de PEG-400, 1,75 g de hidroxipropilcelulosa, 10 ml de miristato de isopropilo

y 100 ml de alcohol purificado USP. La mezcla de gel resultante se incorpora luego en recipientes, tales como tubos, que son adecuados para administración tópica.

Ejemplo 5H. Para preparar una composición farmacéutica tópica en gel, se mezclan aproximadamente 100 mg de prednisolona con aproximadamente 10 ml de PEG-400, 1,75 g de hidroxipropilcelulosa, 10 ml de miristato de isopropilo y 100 ml de alcohol purificado USP. La mezcla de gel resultante se incorpora luego en recipientes, tales como tubos, que son adecuadas para la administración tópica.

Composiciones oftálmicas en solución

Ejemplo 5I. Para preparar una composición farmacéutica oftálmica en solución, aproximadamente 100 mg de un compuesto de salmeterol y aproximadamente 100 mg de budesonida se mezclan con 0,9 g de NaCl en 100 ml de agua purificada y se filtran utilizando un filtro de 0,2 micras. La solución isotónica resultante se incorpora entonces a las unidades oftálmicas de administración, tales como recipientes de colirios, que son adecuados para administración oftálmica.

Ejemplo 5J. Para preparar una composición farmacéutica oftálmica en solución, aproximadamente 100 mg de un compuesto de formoterol y aproximadamente 100 mg de budesonida se mezclan con 0,9 g de NaCl en 100 ml de PEG-400 aproximadamente al 10% v/v en agua purificada y se filtra utilizando un filtro de 0,2 micras. La solución isotónica resultante se incorpora entonces a las unidades oftálmicas de administración, tales como recipientes de colirios, que son adecuados para administración oftálmica.

Ejemplo 5K. Para preparar una composición farmacéutica oftálmica en solución, aproximadamente 100 mg de un compuesto de formoterol y sobre hialuronidasa (a una concentración final de 10 U.I./ml) se mezcla con 0,9 g de NaCl en 100 ml de aproximadamente 10% v/v de PEG-400 en agua purificada y se filtró utilizando un filtro de 0,2 micras. La solución resultante isotónica se incorpora entonces a las unidades oftálmicas de administración, tales como recipientes de colirios, que son adecuados para administración oftálmica.

Ejemplo 5L. Para preparar una composición farmacéutica oftálmica en solución, aproximadamente 100 mg de un compuesto de cetotifeno se mezclan con 0,9 g de NaCl en 100 ml de v/v de PEG-400 aproximadamente al 20% en agua purificada y se filtra utilizando un filtro de 0,2 micrómetros. La solución isotónica resultante se incorpora entonces a las unidades oftálmicas de administración, tales como recipientes de colirios, que son adecuados para administración oftálmica.

Composiciones orales

Ejemplo 5M Para preparar una composición farmacéutica oral, se mezclan aproximadamente 100 mg de un compuesto de prednisolona con 750 mg de almidón. La mezcla se incorpora en una unidad de dosis oral, tal como una cápsula de gelatina dura, que es adecuada para administración oral.

Ejemplo 5N Para preparar una composición farmacéutica oral, aproximadamente 50 mg de un compuesto de budesonida se mezclan con 375 mg de gelatina. La mezcla se incorpora en una unidad de dosis oral, tal como una cápsula de gelatina dura, que es adecuada para administración oral.

Ejemplo 5O Para preparar una composición farmacéutica oral, se mezclan aproximadamente 200 mg de un compuesto de cetotifeno con 1500 mg de hidroxipropilmetilcelulosa. La mezcla se incorpora en una unidad de dosis oral, tal como una cápsula de gelatina dura, que es adecuada para administración oral.

Ejemplo 5P Para preparar una composición farmacéutica oral, se mezclan aproximadamente 50 mg de un compuesto de propionato de fluticasona con 600 mg de almidón. La mezcla se incorpora en una unidad de dosis oral, tal como una cápsula de gelatina dura, que es adecuada para administración oral.

Ejemplo 6: Regímenes de administración de agonistas beta y glucocorticosteroides

Los ejemplos no limitativos de dichos regímenes de administración son los siguientes:

Ejemplo 6A. A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C el día 1 y posteriormente cada día impar de tratamiento. Los días pares, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5D.

Ejemplo 6B. A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5D el día 1 y posteriormente cada día impar de tratamiento. Los días pares, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C

Ejemplo 6C. A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C a diario. Los días pares, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz

de la composición 5D.

5 **Ejemplo 6D.** A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5D a diario. Los días pares, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C.

10 **Ejemplo 6E.** A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C el día 1 seguido de una carencia de dos días. El segundo día de carencia, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5D. Esta administración se repite a continuación.

15 **Ejemplo 6F.** A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5D en el día 1 seguido de una carencia de dos días. El segundo día de carencia, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C. Esta administración se repite a continuación.

20 **Ejemplo 6G.** A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de composición en 5M día 1 y posteriormente cada día impar de tratamiento. Los días pares, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C.

Ejemplo 6H. A un paciente que padece oftalmopatía de Graves se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5C a diario. Los días pares, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición 5M.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un agonista del receptor beta-adrenérgico; y
una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un glucocorticosteroide;
para su utilización en la reducción de la acumulación de grasa orbitaria en un paciente que lo necesita.
- 10 2. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según la reivindicación 1, en las que el paciente presenta exoftalmia.
3. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según la reivindicación 2, en las que la exoftalmia es la exoftalmia bilateral.
- 15 4. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en las que el paciente padece la enfermedad ocular tiroidea.
- 20 5. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en las que dicho por lo menos un glucocorticosteroide es administrado antes de dicho por lo menos un agonista beta-adrenérgico.
- 25 6. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en las que dicho por lo menos un glucocorticosteroide es administrado aproximadamente 3 días a aproximadamente 7 días antes de dicho por lo menos un agonista beta-adrenérgico.
- 30 7. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en las que dicho por lo menos un glucocorticosteroide es administrado por una vía de administración intraocular, intraorbitaria, oftálmica, periorbitaria, retrobulbar o intraconal.
- 35 8. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en las que por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende un agonista beta-adrenérgico de acción prolongada.
9. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en las que dicho por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende un agonista beta-adrenérgico que es selectivo para el receptor beta-2 adrenérgico.
- 40 10. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en las que dicho por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende salmeterol, formoterol o cualquier sal o combinación de los mismos.
- 45 11. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en las que dicho por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende salmeterol y la cantidad terapéuticamente eficaz de salmeterol es aproximadamente 0,01 µg/día a aproximadamente 100 µg/día, opcionalmente en las que dicho por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende formoterol y la cantidad terapéuticamente eficaz de formoterol es aproximadamente 0,001 µg/día a aproximadamente 50 µg/día.
- 50 12. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en las que dicho por lo menos un glucocorticosteroide comprende dexametasona, prednisolona, metilprednisolona, fluticasona, budesonida o cualquier combinación de las mismas.
- 55 13. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende además un agente inmunosupresor en el que el agente inmunosupresor se administra por vía intraocular, intraorbitaria, oftálmica, periorbitaria, retrobulbar o intraconal antes de la administración de por lo menos un compuesto, opcionalmente en las que el agente inmunosupresor está presente en una cantidad terapéuticamente eficaz que se administra en forma de una suspensión de micropartículas cristalinas.
- 60 14. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en las que la utilización sensibiliza acumulación de grasa orbitaria.
- 65 15. Preparación que comprende las cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que la composición comprende una mezcla de por lo menos un agonista beta-adrenérgico de acción prolongada y por lo menos un agonista beta-adrenérgico de acción a corto plazo; y opcionalmente la composición comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de hialuronidasa.
16. Preparación que comprende las cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según

- 5 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que dicho por lo menos un agonista beta-adrenérgico comprende salmeterol, formoterol, bambuterol, eformoterol, isoproterenol, albuterol, o fenoterol, opcionalmente en la que (i) la composición comprende salmeterol y la cantidad terapéuticamente eficaz de salmeterol es aproximadamente 0,01 µg/día a aproximadamente 100 µg/día; (ii) la composición comprende formoterol y la cantidad terapéuticamente eficaz de formoterol es aproximadamente 0,001 µg/día a aproximadamente 50 µg/día; o (iii) la administración de la composición es parenteral, oral, intraocular, intraorbitaria, intraconal, oftálmica, retrobulbar, tópica, intramuscular, transdérmica, sublingual, intranasal o respiratoria.
- 10 17. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en las que el paciente padece una enfermedad que implica acumulación de grasa orbitaria.
18. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en las que la preparación comprende xinafoato de salmeterol.
- 15 19. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en las que el agonista del receptor beta-adrenérgico es el fumarato de formoterol.
- 20 20. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según las reivindicaciones 1 a 19, en las que el glucocorticosteroide es el propionato de fluticasona.
- 25 21. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según las reivindicaciones 1 a 20, en las que dicho por lo menos un agonista del receptor beta-adrenérgico, y dicho por lo menos un glucocorticosteroide se formulan para la administración a dicho paciente en una cantidad suficiente para conseguir la reducción de la acumulación de grasa orbitaria.
22. Cantidades terapéuticamente eficaces de los agentes para la utilización según las reivindicaciones 1 a 20, en las que dicho por lo menos un agonista del receptor beta-adrenérgico y dicho por lo menos un glucocorticosteroide se formulan como una preparación combinada.

Fig. 1

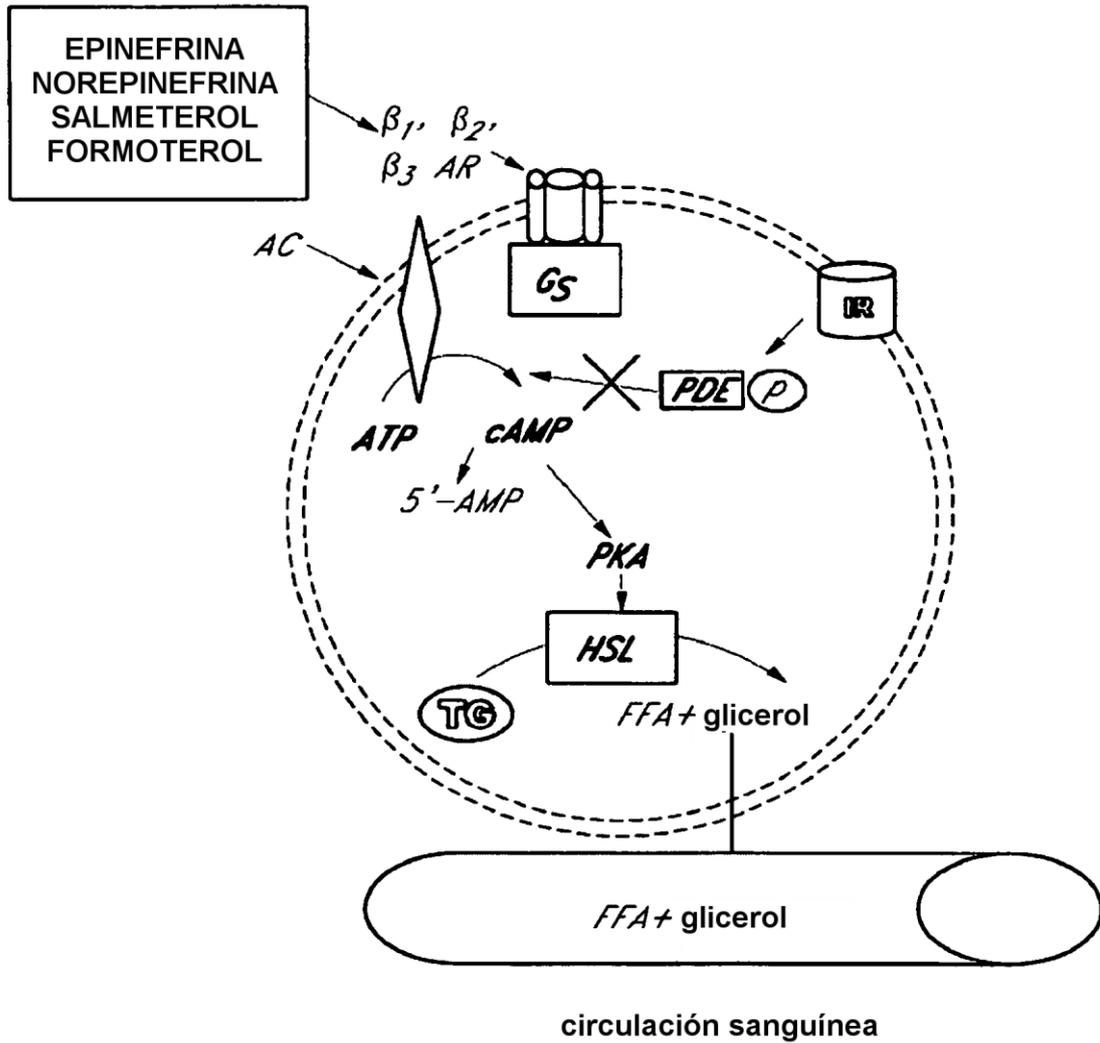


Fig. 2

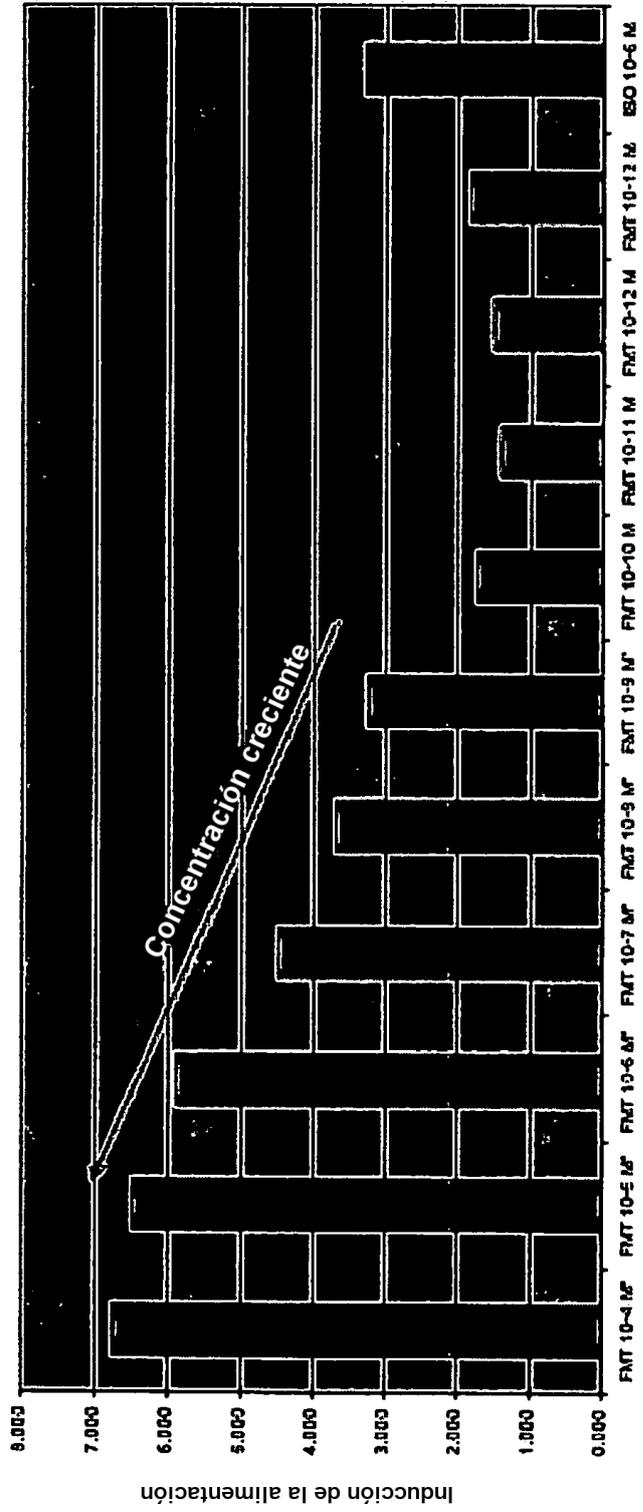


Fig. 3

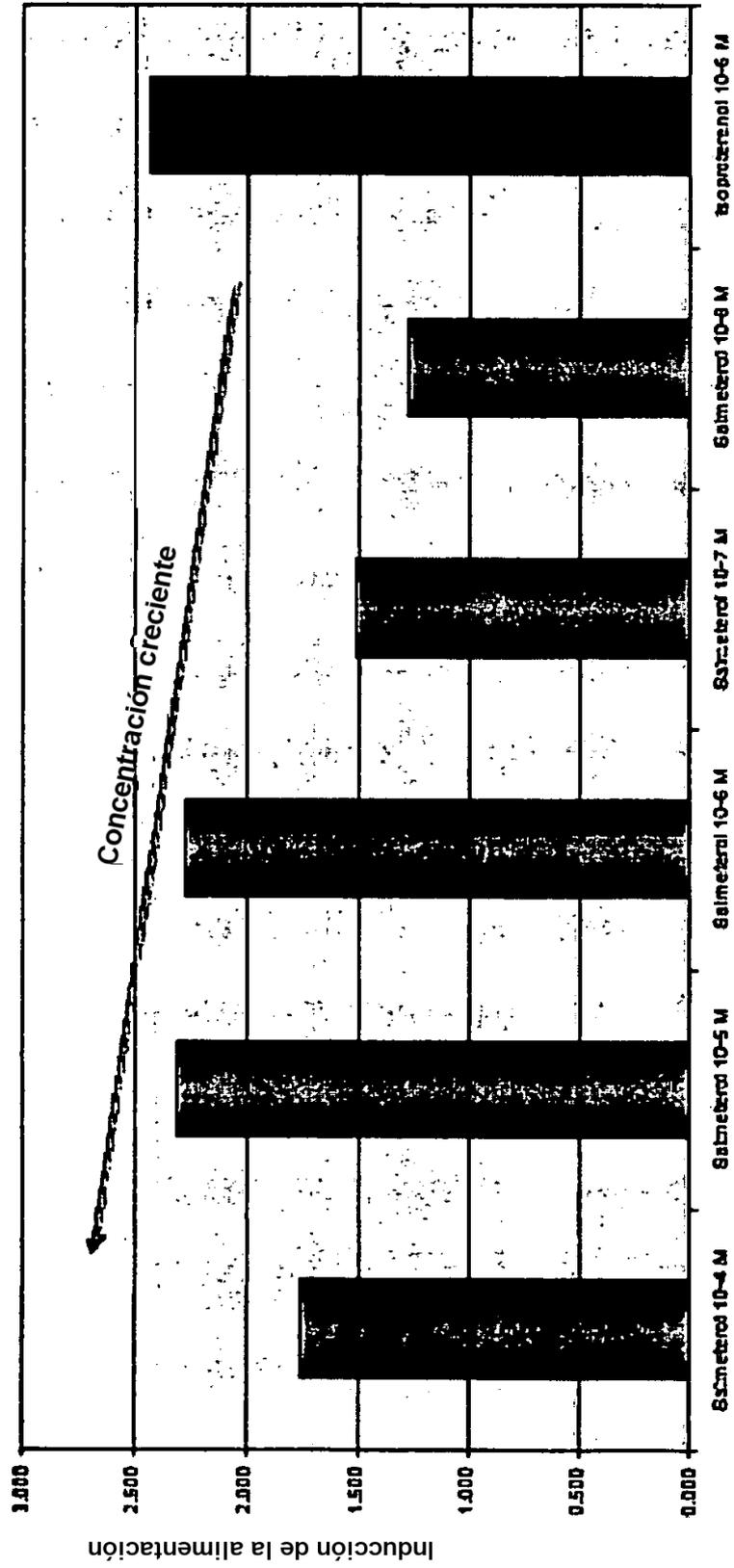


Fig. 4

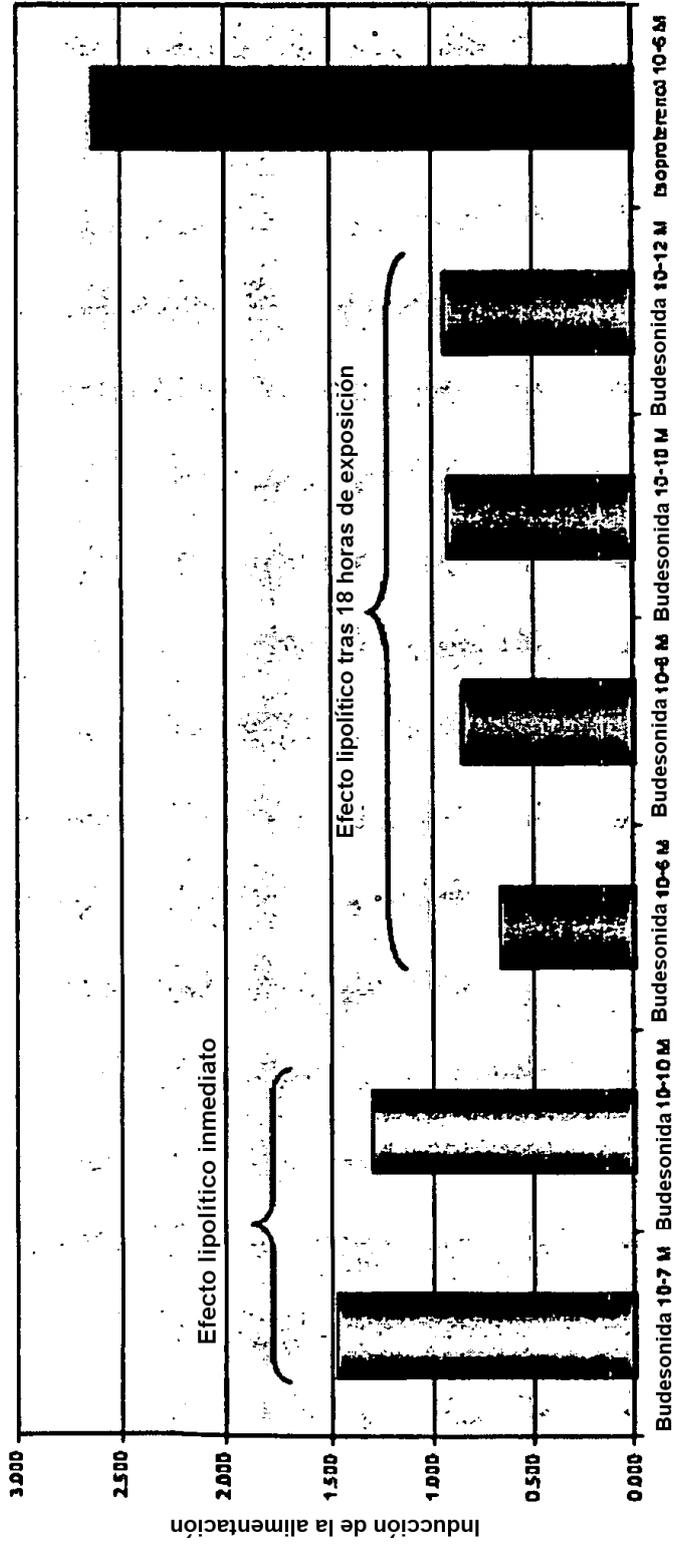


Fig. 5

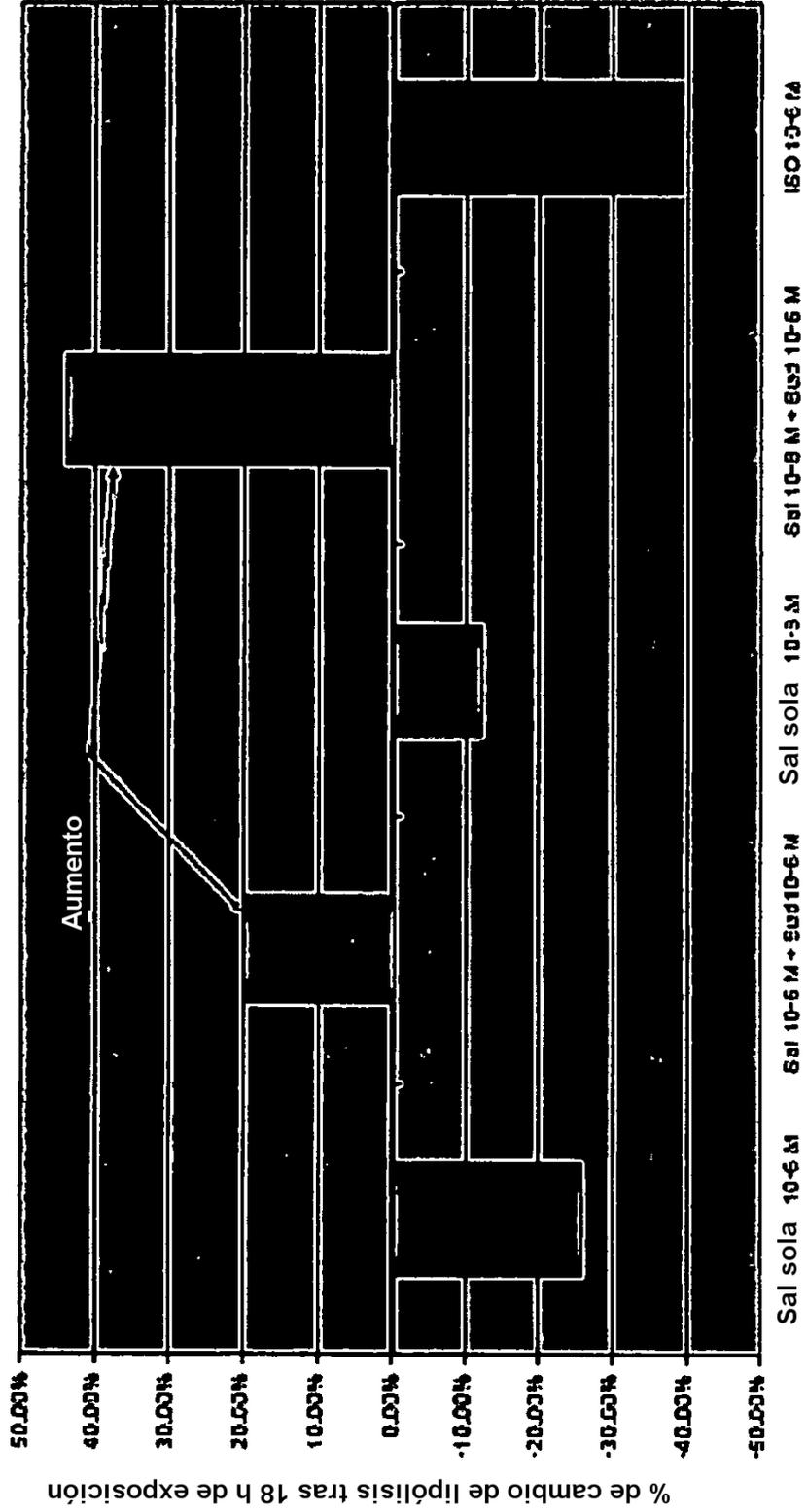


Fig. 6

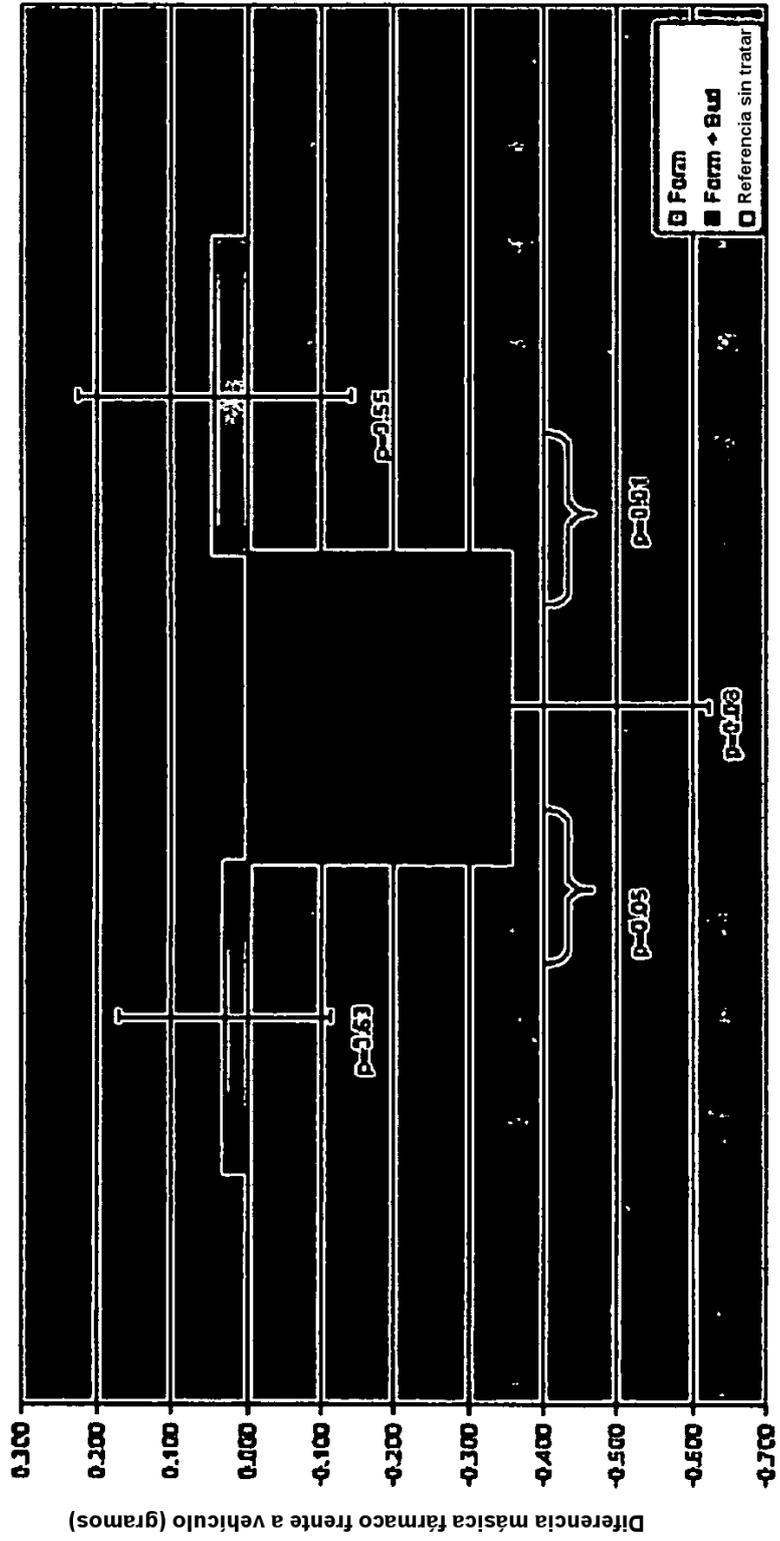


Fig. 7

