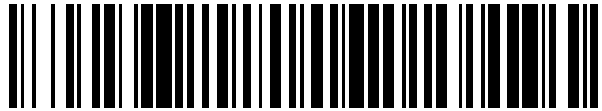


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 417 179**

51 Int. Cl.:

A61K 31/145 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.11.2008 E 08853916 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 2214480**

54 Título: **Métodos para tratar la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) mediante productos basados en cisteamina**

30 Prioridad:

30.11.2007 US 991517 P
31.07.2008 US 85397

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

06.08.2013

73 Titular/es:

THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (100.0%)
1111 FRANKLIN STREET, 5TH FLOOR
OAKLAND, CA 94607-5200, US

72 Inventor/es:

DOHIL, RANJAN y
SCHNEIDER, JERRY

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 417 179 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

Métodos para tratar la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) mediante productos basados en cisteamina

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere en general a materiales y métodos para tratar la enfermedad del hígado graso mediante cisteaminas.

10 **Antecedente de la invención**

La enfermedad grasa hepática (o esteatohepatitis) está frecuentemente asociada con una ingesta excesiva de alcohol o con la obesidad, pero también tiene otras causas como las deficiencias metabólicas incluyendo resistencia a la insulina y diabetes. El hígado graso es el resultado de la acumulación de triglicéridos grasos en las vacuolas de las células hepáticas, dando como resultado una disminución en la función hepática, y posiblemente conduciendo a cirrosis o cáncer hepático.

La enfermedad grasa hepática no alcohólica (EGHNA) representa una gama de enfermedades que se producen en ausencia de alcoholismo. En la actualidad no se dispone de un tratamiento correcto para la enfermedad grasa hepática, ya sea EGHNA o EHNA.

Un artículo publicado en L'Arcisped S Anna di Ferr por Marras (1955, Vol 8, páginas 639 a 644) divulga la administración de cisteamina (o β -mecaptoetilamina) a ratas alimentadas con una dieta de alto contenido en grasa para determinar el efecto de la cisteamina sobre la esteatosis hepática dietética (enfermedad grasa hepática inducida por una dieta de alto contenido en grasa). La esteatosis del presente documento se refiere a la acumulación de lípidos en una célula.

Gulbahar Okan y *col.* han publicado un artículo "Treatment of non-alcoholic steatohepatitis with N-acetyl cystein" en Gastroenterology, Vol. 118, nº 4, (2000, Suplemento 2, Parte 2) que divulga la administración de N-acetil cisteína (NAC) a pacientes que padecen EHNA, que se han sometido a una modificación previa de la dieta. Este documento divulga que el tratamiento con NAC disminuye los niveles de las enzimas hepáticas ALT y AST.

En el World Journal of Gastroenterology (Vol. 13, nº 38, páginas 5127-5132), Thong-Ngam Duangporn y *col.* divulgan la administración de NAC a ratas alimentadas con alto contenido en grasa. Este documento divulga que los niveles séricos de ALT no mejoraron significativamente en las ratas tratadas (véase la Tabla 1). Los niveles de triglicéridos y *col*esterol no se alteraron en las ratas tratadas. Los análisis histológicos demostraron el tratamiento con NAC mostró una mejora mixta en la esteatosis (deposiciones grasas) y en la necroinflamación (véase la Tabla 2). El documento confirma que, en un estudio diferente, no se observó mejora en un grupo tratado con NAC comparado con los sujetos que solamente habían experimentado una modificación en la dieta.

La solicitud de patente publicada WO2007/121545 divulga el uso de S-nitrosotioles, particularmente de S-NAC, en el tratamiento de la enfermedad grasa hepática. El documento describe el uso de S-nitrosotioles como donantes de óxido nítrico que pueden actuar como secuestrantes de radicales libres.

En Seminars in Liver Disease (Vol. 21, nº 1, 2001, páginas 81-88), Paul Angulo y *col.* proporcionan un artículo de revisión que describe tratamientos para las enfermedades grasas hepáticas y cita los estudios realizados por Gulbahar y *col.* descritos anteriormente. En Medizinische Monatschrift Pharmazeuten (Vol. 6 nº. 6, 1983, páginas 171-177), Remmer, divulga que la cisteamina es uno de los diferentes secuestrantes de radicales que son útiles para tratar la toxicidad hepática. La publicación se limita a confirmar la falta de intercambio entre cisteamina, cisteína, glutatión y sus precursores, y enseña además que la administración de glutatión o sus precursores, como la cisteamina, era ineficaz para tratar lesiones hepáticas producidas por intoxicación.

Sumario

La divulgación proporciona una cisteamina que incluye sales o ésteres para usar en el tratamiento de un paciente que padece esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). El tratamiento comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de cisteamina. En una realización, la dosis diaria total de composición de cisteamina es de aproximadamente 0,5-1,0 g/m². En otra realización, la composición de cisteamina se administra a una frecuencia de 4 o menos veces al día (*por ejemplo*, una, dos o tres veces al día). En una realización, la composición es una forma farmacéutica de liberación retardada o controlada que proporciona un aumento de la administración de la cisteamina o derivado de cisteamina en el intestino delgado. La forma de liberación retardada o controlada puede proporcionar una C_{máx} de la cisteamina o derivado de cisteamina o metabolito biológicamente activo de los anteriores, que es al menos de aproximadamente un 35%, 50%, 75% o superior que la C_{máx} proporcionada por una forma farmacéutica de liberación inmediata que contiene la misma cantidad de cisteamina o derivado de cisteamina. En otra realización más, la forma de liberación retardada o controlada comprende un recubrimiento entérico que libera la composición de cisteamina cuando la composición alcanza el intestino delgado,

o una región del tracto gastrointestinal de un sujeto cuyo pH sea mayor de aproximadamente pH 4,5. Por ejemplo, el recubrimiento se puede seleccionar del grupo constituido por gelatina polimerizada, shellac, copolímero de ácido metacrílico de tipo C NF, ftalato butirato de celulosa, hidrogenoftalato de celulosa, propionato ftalato de celulosa, acetato ftalato de polivinilo (PVAP), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, acetato de hidroxipropil metilcelulosa, succinato de dioxipropil metilcelulosa, carboximetil etilcelulosa (CMEC), acetato succinato de hidroxipropil metilcelulosa (HPMCAS), y polímeros y copolímeros de ácido acrílico, formados típicamente a partir de acrilato de metilo, acrilato de etilo, metacrilato de metilo y/o metacrilato de etilo con copolímeros de ésteres de ácido acrílico y metacrílico. La composición se puede administrar por vía oral o parenteral. En otra realización, el método da como resultado la mejora de la fibrosis hepática comparada con los niveles anteriores a la administración de la composición de cisteamina. En otra composición adicional, el método da como resultado una reducción en el contenido en grasa del hígado, una reducción en la incidencia o el progreso de la cirrosis, o una reducción en la incidencia de carcinoma hepatocelular. En una realización, el método da como resultado una disminución en los niveles de aminotransferasa hepática comparados con los niveles anteriores a la administración de la composición de cisteamina. En una realización adicional, la administración da como resultado una reducción en la transaminasa hepática de entre aproximadamente 10% y 40% comparada con los niveles anteriores al tratamiento. En otra realización adicional, la administración da como resultado una reducción en los niveles de alanina o aspartato aminotransferasa en un paciente tratado de aproximadamente 30%, 20% o 10% por encima de los niveles de ALT normales, o a los niveles de ALT normales. En otra realización adicional, la administración da como resultado una reducción en los niveles de ferritina sérica comparados con los niveles anteriores al tratamiento con la composición de cisteamina. Los métodos y composición de la divulgación pueden también incluir la administración de un segundo agente combinado con una composición de cisteamina para tratar la EHNA.

El sujeto puede ser un adulto, adolescente o niño.

En un aspecto, la divulgación proporciona un método para tratar a un paciente que padece EHNA, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cisteamina. Los métodos de la divulgación incluyen también el uso de una cisteamina en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la EHNA, y el uso de una cisteamina en la preparación de un medicamento para administrarlo en combinación con un segundo agente para tratar la EHNA. También se ha incluido el uso de un segundo agente para tratar la EHNA en la preparación de un medicamento para administrarlo en combinación con una cisteamina. Se proporcionan además kits que comprenden una cisteamina para el tratamiento de la EHNA, opcionalmente con un segundo agente para tratar la EHNA, e instrucciones para el tratamiento de la EHNA. El término "enfermedad grasa hepática" puede incluir EHNA.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el efecto del tratamiento con cisteína a 0, 75 y 250 mg/kg/día, administrada intraperitonealmente, sobre los niveles de aspartato aminotransferasa (AST) en animales alimentados con una dieta de alto contenido en grasa (HFD) durante 8 días. También se muestran los niveles de AST de los animales control, no alimentados con la HFD. El gráfico representa los valores promedio de AST procedentes de muestras de sangre extraídas el día del estudio -1 ("pre") y el día del estudio 8 (SD8).

La figura 2 muestra el efecto del tratamiento con cisteína a 0, 75 y 250 mg/kg/día, administrada intraperitonealmente, sobre los niveles de colesterol en animales alimentados con una HFD durante 8 días. También se muestran los niveles de colesterol de los animales control, no alimentados con la HFD. El gráfico representa los valores promedio de colesterol procedentes de muestras de sangre extraídas el día del estudio -1 ("pre") y el día del estudio 8 (SD8).

La figura 3 muestra el efecto del tratamiento con cisteína a 0, 75 y 250 mg/kg/día, administrada intraperitonealmente, sobre los niveles de lipoproteína de baja densidad-colesterol (LDL-colesterol) en animales alimentados con una HFD durante 8 días. También se muestran los niveles de LDL-colesterol de los animales control, no alimentados con la HFD. El gráfico representa los valores promedio de LDL-colesterol procedentes de muestras de sangre extraídas el día del estudio -1 ("pre") y el día del estudio 8 (SD8).

La figura 4 muestra el efecto del tratamiento con cisteína a 0, 75 y 250 mg/kg/día, administrada intraperitonealmente, sobre los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) en animales alimentados con una HFD durante 8 días. También se muestran los niveles de LDH de los animales control, no alimentados con la HFD. El gráfico representa los valores promedio de LDH procedentes de muestras de sangre extraídas el día del estudio -1 ("pre") y el día del estudio 8 (SD8).

La figura 5 muestra el efecto del tratamiento con cisteína a las dosis diana de 0, 25, 75 y 250 mg/kg/día, suministradas en el agua de bebida, sobre los niveles de AST en animales alimentados con una HFD durante 8 semanas. También se muestran los niveles de AST de los animales control, no alimentados con la HFD. El gráfico representa los valores promedio de AST \pm SEM procedentes de muestras de sangre extraídas el día del estudio -1 ("semana 0") y el último día de la semana indicada (semana 2, 4, 6 u 8).

La figura 6 muestra el efecto del tratamiento con cisteína a las dosis diana de 0, 25, 75 y 250 mg/kg/día, suministradas en el agua de bebida, sobre los niveles de LDH en animales alimentados con una HFD durante 8 semanas. También se muestran los niveles de LDH de los animales control, no alimentados con la HFD. El gráfico representa los valores promedio de LDH \pm SEM procedentes de muestras de sangre extraídas el día del estudio -1 ("semana 0") y el último día de la semana indicada (semana 2, 4, 6 u 8).

La figura 7 muestra el efecto del tratamiento con cisteína a las dosis diana de 0, 25, 75 y 250 mg/kg/día, suministradas en el agua de bebida, sobre la lipoproteína de alta densidad colesterol (HDL-colesterol) en animales alimentados con una HFD durante 8 semanas. También se muestran los niveles de HDL-colesterol de los animales control, no alimentados con la HFD. El gráfico representa los valores promedio de HDL-colesterol \pm SEM procedentes de muestras de sangre extraídas el día del estudio -1 ("semana 0") y el último día de la semana indicada (semana 2, 4, 6 u 8).

Descripción detallada

Tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "a," "y," y "el" incluyen referencias plurales salvo que el contexto indique claramente lo contrario. De este modo, por ejemplo, la referencia a "un derivado" incluye una pluralidad dichos derivados, y la referencia a "un sujeto" incluye la referencia a uno o más sujetos, y así sucesivamente.

También, el uso de "o" significa "y/o" salvo que se indique lo contrario. Análogamente, "comprenden", "comprende", "que comprende", "incluyen", "incluye," y "que incluyen" son indistintos, y no se pretende que sean limitantes.

Debe entenderse además que cuando las descripciones de las diferentes realizaciones utilizan el término "que comprende", los expertos en la materia entenderán que en algunos casos específicos, una realización se puede describir alternativamente usando la expresión "que consiste esencialmente de" o "que consiste de."

Salvo que se defina de otra forma, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen los significados habituales que entiende habitualmente una persona experta en la materia a la que pertenece esta divulgación. Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento para llevar a la práctica los métodos y composiciones divulgados, los métodos, dispositivos y materiales ilustrativos se han descrito en el presente documento.

Las publicaciones descritas anteriormente y en todo el texto se han proporcionado solamente debido a que se divulgaron antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada del presente documento debe considerarse como la admisión de que los inventores no tienen el derecho de datar previamente esta divulgación según la divulgación anterior.

La divulgación proporciona nuevos compuestos terapéuticos que pueden aliviar los síntomas asociados con EHNA en pacientes que padecen la enfermedad. La divulgación proporciona composiciones de cisteamina que proporcionan un tratamiento eficaz para los pacientes necesitados de tratamiento.

Las siguientes referencias proporcionan al experto en la materia una definición general de muchos de los términos utilizados en esta divulgación: Singleton, *y col.*, DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY (2ª ed. 1994); THE CAMBRIDGE DICTIONARY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY (Walker ed., 1988); THE GLOSSARY OF GENETICS, 5ª ED., R. Rieger, *y col.* (eds.), Springer Verlag (1991); y Hale y Marham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY (1991).

La cisteamina es un precursor de la proteína precursora glutatión (GSH), y en la actualidad está autorizada por la FDA para su uso en el tratamiento de la cistinosis, un trastorno del almacenamiento intralisosómico de la cistina. En la cistinosis, la cisteamina actúa convirtiendo la cistina en cisteína y disulfuro mixto de cisteína-cisteamina que a continuación tienen la capacidad de abandonar el lisosoma mediante los transportadores de cisteína y lisina, respectivamente (Gahl *y col.*, N Engl J Med 2002; 347 (2):111-21). Dentro del citosol, el disulfuro mixto se puede reducir por reacción con el glutatión, y la cisteína liberada se puede utilizar en la síntesis adicional de GSH. La síntesis de GSH a partir de cisteína está catalizada por dos enzimas, gamma-glutamylcisteína sintetasa y GSH sintetasa. Esta ruta se produce en casi todos los tipos de células, siendo el hígado el principal productor y exportador de GSH. El disulfuro mixto de cisteína-cisteamina reducido también liberará cisteamina que, en teoría, es posteriormente capaz de volver a entrar en el lisosoma, unirse a más cistina y repetir el proceso (Dohil *y col.*, J Pediatr 2006; 148 (6):764-9). En un estudio reciente en niños con cistinosis, la administración enteral de cisteamina dio como resultado un aumento de los niveles de cisteamina en plasma, que posteriormente consiguió una eficacia prolongada en la disminución de los niveles de cistina leucocitaria (Dohil *y col.* J Pediatr 2006; 148 (6):764-9). Esto puede deberse a la "recirculación" de cisteamina cuando cantidades adecuadas de fármaco llegan al lisosoma. Si la cisteamina actúa de esta forma, la producción de GSH puede verse significativamente potenciada.

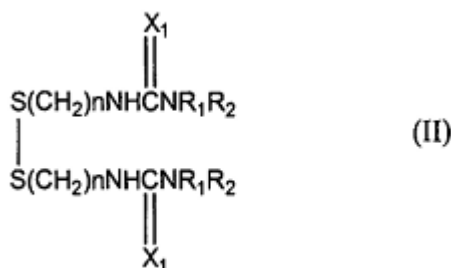
La cisteamina es un potente secretagogo de ácido gástrico que se ha utilizado en animales de laboratorio para inducir ulceración duodenal; los estudios en seres humanos y animales han demostrado que la hipersecreción de

ácido gástrico dependiente de cisteamina está mediada más probablemente por una hipergastrinemia. En estudios anteriores realizados en niños con cistinosis que padecían regularmente síntomas gastrointestinales superiores, se demostró que una sola dosis oral de cisteamina (11-23 mg/kg) ocasionaba hipergastrinemia y un aumento de 2 a 3 veces en la hipersecreción de ácido gástrico, y un aumento del 50% en los niveles de gastrina sérica. Los síntomas padecidos por estos individuos incluyeron dolor abdominal, ardor de estómago, náusea, vómito y anorexia. La solicitud de patente de los Estados Unidos nº 11/990.869 y la Publicación internacional publicada nº WO 2007/089670, donde ambas reivindican la prioridad de la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos nº 60/762.715, presentada el 26 de enero de 2006, demostraron que la hipergastrinemia inducida por cisteamina surge, en parte, como un efecto local sobre las células G gástricas principalmente del antro en individuos susceptibles. Los datos también sugieren que existe también un efecto sistémico sobre la liberación de gastrina debido a cisteamina. En función de la ruta de administración, los niveles de gastrina en plasma alcanzan habitualmente un máximo después de la liberación intragástrica en un plazo de 30 minutos, mientras que los niveles de cisteamina en plasma alcanzan el máximo más tarde.

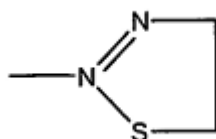
Los sujetos con cistinosis deben ingerir cisteamina oral (CYSTAGON®) cada 6 horas, día y noche. Cuando se toma de forma regular, la cisteamina puede agotar la cistina intracelular hasta en un 90% (medido en glóbulos blancos en circulación), y se ha demostrado que esto reduce la tasa de progreso a insuficiencia/trasplante renal, y también elimina la necesidad de tratamiento de sustitución tiroidea. Debido a la dificultad de la toma de CYSTAGON®, la reducción de la dosificación necesaria mejora el cumplimiento terapéutico. La publicación internacional nº WO 2007/089670 demuestra que la liberación de cisteamina en el intestino delgado reduce el estrés gástrico y la ulceración, aumenta la $C_{máx}$ y aumenta la ABC. El suministro de cisteamina en el interior del intestino delgado es útil porque mejora las tasas de absorción en el intestino delgado y/o menos cisteamina llega hasta la eliminación hepática de primer paso cuando se absorbe en el intestino delgado. Se observó una disminución en la lisina leucocitaria en el plazo de una hora después del tratamiento.

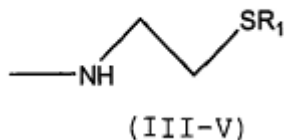
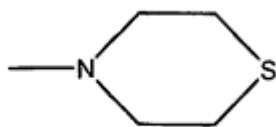
La divulgación proporciona cisteaminas útiles en el tratamiento de enfermedades y trastornos relacionados con el hígado graso. Una cisteamina se refiere, por lo general a la cisteamina o una sal de cisteamina.

Una cisteamina incluye sales. En algunas realizaciones, las sales de cisteamina incluyen sales de clorhidrato, sales de bitartrato, derivados fosforilados y derivados sulfatados. Los ejemplos de cisteamina incluyen 2-aminopropano tiol-1, 1-aminopropano tiol-2, cisteamina N- y S- sustituida, AET, derivados de aminoalquilo, fosfortioato, amifostina (Patente de los Estados Unidos 4.816.482). En una realización, una cisteamina excluye específicamente la N-acetilcisteína. En una realización, la cisteamina comprende las estructuras descritas a continuación:



donde n representa 2 o 3, cada R_1 y R_2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido por un grupo hidroxilo, amino, alquilamino o dialquilamino, o bien representa un grupo cicloalquilo o arilo, y X_1 representa un grupo seleccionado del grupo constituido por =N-CN, =N-NCO₂, =N-COR₃, =N-NR-COOR₃, =N-NR-CONH₂, =N-SO₂R₃, =CH-NO₂, -CH-SO₂R₃, =C(CN)₂, =C(CN)COOR₃ y =C(CN)CONH₂, donde R_3 es un grupo alquilo o arilo. En otro aspecto, una cisteamina puede comprender un radical cisteamina unido a cualquier número de grupos no tóxicos como se indica a continuación:





donde R₁ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 10 átomos de carbono.

5 También están incluidas las sales farmacéuticamente aceptables de las cisteaminas, y comprenden aniones y/o cationes farmacéuticamente aceptables. Los cationes farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otros, los cationes de metales alcalinos (*por ejemplo*, Li⁺, Na⁺, K⁺), cationes de metales alcalinotérreos (*por ejemplo*, Ca²⁺, Mg²⁺), cationes de metales pesados no tóxicos y amonio (NH⁴⁺) y amonio sustituido (N(R')⁴⁺, donde R' es hidrogeno, alquilo o alquilo sustituido, es *decir*, incluyendo, metilo, etilo, o hidroxietilo, específicamente cationes de

10 trimetilamonio, trietilamonio y trietanolamonio). Los aniones farmacéuticamente aceptables incluyen entre otros los haluros (*por ejemplo*, Cl⁻, Br⁻), sulfato, acetatos (*por ejemplo*, acetato, trifluoroacetato), ascorbatos, aspartatos, benzoatos, citratos, y lactato.

15 Las cisteaminas pueden tener un recubrimiento entérico. Un fármaco o comprimido con recubrimiento entérico se refiere, en general, a un fármaco o comprimido que está recubierto con una sustancia (un "recubrimiento entérico") que permanece intacto o sustancialmente intacto de forma que el fármaco o comprimido atraviesa el estómago pero se disuelve y libera el fármaco en el intestino delgado.

20 Un recubrimiento entérico puede ser un material o materiales poliméricos que envuelven un núcleo de medicamento (*por ejemplo*, cistamina, cisteamina, CYSTAGON® u otra cisteamina). De forma típica, una cantidad sustancial o todo el material de recubrimiento entérico se han disuelto antes de que el medicamento o agente terapéuticamente activo se libere desde la forma farmacéutica, de forma que se consiga una disolución o administración retardada del núcleo del medicamento. Un polímero sensible al pH adecuado es aquel que se disuelve en un ambiente intestinal a

25 un nivel de pH más alto (pH mayor que 4,5), tal como dentro del intestino delgado y permite de este modo la liberación del principio activo farmacéutico en las regiones del intestino delgado y no en la parte superior del tracto GI, tal como el estómago.

30 La cisteamina también puede incluir portadores o vehículos farmacéuticamente aceptables adicionales. Un portador o vehículo farmacéuticamente aceptable se refiere, en general, a los materiales que son adecuados para la administración a un sujeto donde el portador o vehículo no es biológicamente perjudicial, o bien, pueda causar efectos indeseados. Estos portadores o vehículos son de forma típica ingredientes inertes de un medicamento. De forma típica, un portador o vehículo se administra a un sujeto junto con el principio activo sin causarle ningún efecto biológico indeseable ni interactuar de una forma perjudicial con ninguno de los otros componentes de la composición

35 farmacéutica donde esté contenido.

Un producto de cisteamina u otro principio activo puede comprender una sal, éster u otro derivado farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, las sales, ésteres y otros derivados comprenden formas biológicamente activas que tienen un efecto biológico similar comparado con el compuesto progenitor. Las sales ilustrativas incluyen

40 la sal de clorhidrato y las sales de bitartrato.

Un principio activo, compuesto farmacéutico u otra composición de la divulgación puede comprender un agente estabilizante. Los agentes estabilizantes, en general, se refieren a compuestos que disminuyen la velocidad a la que un compuesto farmacéutico se degrada, especialmente una formulación farmacéutica oral en las condiciones

45 ambientales de almacenamiento.

Tal como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto que es suficiente para dar como resultado una mejora de los síntomas, por ejemplo, tratamiento, cicatrización, prevención o mejora de la patología médica relevante, o un aumento en la velocidad de

50 tratamiento, cicatrización, prevención o mejora de dichas patologías, proporcionando de forma típica una mejora estadísticamente significativa en la población de pacientes tratados. Cuando se hace referencia a un principio activo

individual, administrado solo, una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a dicho principio solo. Cuando se hace referencia a una combinación, una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a las cantidades combinadas de los principios activos que da como resultado el efecto terapéutico, cuando se administra en combinación, que incluye administración en serie o administración simultánea. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la

- 5 cisteamina mejora los síntomas, incluyendo pero sin limitación, fibrosis hepática, contenido en grasa del hígado, incidencia o progreso de cirrosis, incidencia de carcinoma hepatocelular, aumento en los niveles de aminotransferasas hepáticas tales como ALT y AST, aumento de la ferritina sérica, aumento en los niveles de gamma-glutamilttransferasa (gamma-GT), y niveles elevados de insulina, colesterol y triglicéridos en plasma.
- 10 La enfermedad grasa hepática no alcohólica (EGHNA) representa una gama de enfermedades que se producen en ausencia de alcoholismo. Se caracteriza por la presencia de esteatosis (grasa en el hígado) y puede representar una manifestación hepática del síndrome metabólico (que incluye obesidad, diabetes e hipertrigliceridemia). EGHNA está vinculada a la resistencia a la insulina, ocasiona enfermedad hepática en adultos y niños y puede finalmente conducir a la cirrosis (Skelly y col., J Hepatol 2001; 35: 195-9; Chitturi y col., Hepatology 2002;35 (2):373-9). La
- 15 gravedad de la EGHNA oscila de la esteatosis aislada predominantemente macrovesicular relativamente benigna (es decir la enfermedad grasa hepática no alcohólica EGHNA) hasta la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) (Angulo y col., J Gastroenterol Hepatol 2002;17 Supl:S186-90). EHNA se caracteriza por la presencia histológica de esteatosis, aparición de globos citológicos, inflamación diseminada y fibrosis pericelular (Contos y col. Adv Anat Pathol 2002;9:37-51). La fibrosis hepática resultado de EHNA puede evolucionar a cirrosis hepática o insuficiencia hepática
- 20 y, en algunos casos, puede conducir a carcinoma hepatocelular.

El grado de resistencia a la insulina (y de hiperinsulinemia) se correlaciona con la gravedad de la EGHNA, que es más pronunciada en pacientes con EHNA que en los que tienen meramente un hígado graso (Sanyal y col., Gastroenterology 2001; 120 (5):1183-92). Como resultado, se produce la supresión mediada por insulina de la lipólisis y aumentan los niveles de ácidos grasos en circulación. Dos factores asociados con EHNA incluyen resistencia a la insulina y un aumento del suministro de ácidos grasos libres al hígado. La insulina bloquea la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. El aumento en la generación de ácidos grasos libres para reesterificación y oxidación hepática da como resultado la acumulación de grasa intrahepática y aumenta la vulnerabilidad del hígado a ataques secundarios.

- 25
- 30 Glutati6n (gamma-glutamyl-cisteinyl-glycine; GSH) es un antioxidante end6geno principal, y su agotamiento est6 implicado en el desarrollo de lesi6n hepatocelular (Wu y col., J Nutr 2004; 134 (3):489-92). Una de estas lesiones es el envenenamiento por acetaminof6n, donde los niveles reducidos de GSH se agotan en un intento de conjugar e inactivar el metabolito hepatot6xico del f6rmaco. Tras una dosis t6xica de acetaminof6n, el metabolito en exceso (N-acetil-benzoquinoneimina) se une covalentemente a las prote6nas y enzimas hep6ticas dando como resultado la lesi6n hep6tica (Wu y col., J Nutr 2004; 134 (3):489-92; Prescott y col., Annu Rev Pharmacol Toxicol 1983; 23:87-101). Por tanto, parece que un aumento en los niveles de glutati6n tiene de este modo cierto efecto protector a trav6s de la reducci6n de las ROS. El propio glutati6n no penetra en las c6lulas con facilidad, incluso cuando se administra en grandes cantidades. Sin embargo, los precursores del glutati6n penetran en las c6lulas y algunos precursores de GSH tal como la N-acetilciste6na han demostrado su eficacia en el tratamiento de patolog6as tales como la toxicidad por acetaminof6n ralentizando o evitando el agotamiento de GSH (Prescott y col., Annu Rev Pharmacol Toxicol 1983;23:87-101). Los ejemplos de precursores del GSH incluyen ciste6na, N-acetilciste6na, metionina y otros compuestos que contienen azufre tales como cisteamina (Prescott y col., J Int Med Res 1976;4(4 Supl):112-7).
- 35
- 40

La ciste6na es un factor limitante principal de la s6ntesis de GSH y los factores (*por ejemplo*, insulina y factores de crecimiento) que estimulan la captaci6n de ciste6na por las c6lulas generalmente dan como resultado un aumento en los niveles intracelulares de GSH (Lyons y col., Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97 (10):5071-6; Lu SC. Curr Top Cell Regul 2000;36:95-11).

- 45
- 50 Se ha administrado N-acetilciste6na a pacientes con EHNA. En los informes de Turqu6a, los individuos obesos con EHNA tratados con N-acetilciste6na durante 4-12 semanas mostraron una mejora en los niveles de aminotransferasa y de gamma-GT aunque no se notificaron cambios en el 6ndice de masa corporal del sujeto (Pamuk y col., J Gastroenterol Hepatol 2003;18 (10) :1220-1).

- 55 La cisteamina (HS-CH₂-CH₂-NH₂) puede atravesar las membranas celulares con facilidad debido a su peque6o tama6o. En la actualidad la cisteamina est6 autorizada por la FDA solamente para el tratamiento de la cistinosis, un trastorno del almacenamiento intralisos6mico de cistina. En la cistinosis, la cisteamina act6a convirtiendo la cistina en ciste6na y el sulfuro mixto de ciste6na-cisteamina, que a continuaci6n pueden abandonar el lisosoma mediante los transportadores de ciste6na y lisina respectivamente (Gahl y col., N Engl J Med 2002;347 (2):111-21). Se ha demostrado que el tratamiento con cisteamina da como resultado una disminuci6n de los niveles intracelulares de cistina en leucocitos en circulaci6n (Dohil y col., J. Pediatr 2006;148 (6) :764-9).
- 60

- Los estudios en ratones y en seres humanos mostraron que la cisteamina era eficaz para prevenir la lesi6n hepatocelular inducida por acetaminof6n (Prescott y col., Lancet 1972; 2 (7778):652; Prescott y col., Br Med J 1978; 1 (6116):856-7; Mitchell y col., Clin Pharmacol Ther 1974;16 (4):676-84). Se ha informado que cisteamina y ciste6na
- 65

reducen la necrosis de hepatocitos inducida por algunas hepatotoxinas. (*Toxicol Appl Pharmacol*. 1979 Apr; 48 (2):221-8). Se ha demostrado que cisteamina mejora la fibrosis hepática inducida por tetracloruro de carbono mediante la inhibición de la transglutaminasa tisular (Qiu y col., *World J Gastroenterol*. 13:4328-32, 2007).

5 La prevalencia de la EGHNA en niños es desconocida dado el requisito de análisis histológico del hígado para confirmar el diagnóstico (Schwimmer y col., *Pediatrics* 2006;118 (4):1388-93). Sin embargo, la estimación de la prevalencia se puede inferir de los datos de obesidad pediátrica usando ultrasonografía hepática y los niveles elevados de transaminasa sérica, y el conocimiento de que el 85% de los niños con EGHNA son obesos. Los datos de la National Health and Nutrition Examination Survey ha revelado un aumento de tres veces en la prevalencia de
10 obesidad en infancia y adolescencia en los últimos 35 años; los datos de 2000 sugieren que el 14-16% de los niños entre 6-19 años de edad son obesos con un IMC >95% (Fishbein y col., *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36 (1) :54-61), y también del hecho que el 85% de los niños con EGHNA son obesos.

En pacientes con EGHNA histológicamente demostradas, los niveles de aminotransferasas hepáticas séricas, específicamente la alanina aminotransferasa (ALT), están elevados con respecto al límite superior normal hasta 10 veces dicho límite (Schwimmer y col., *J Pediatr* 2003; 143 (4):500-5; Rashid y col., *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30 (1):48-53). La relación ALT/AST (aspartato aminotransferasa) es >1 (intervalo 1,5 – 1,7) que difiere de la esteatohepatitis, donde la relación es por lo general <1. Otros análisis serológicos anómalos que pueden estar anormalmente elevados en la EHNA incluyen la gamma-glutamilttransferasa (gamma-GT) y los niveles de insulina,
15 colesterol y triglicéridos en ayunas.

El mecanismo exacto por el que la EGHNA se convierte en EHNA sigue siendo desconocido. Como la resistencia a la insulina está asociada tanto con EGHNA como con EHNA, se ha postulado que se requieren otros factores adicionales para que aparezca la EHNA. Esto se denomina como la hipótesis “de las dos dianas” (Day CP. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16 (5):663-78) e implica, en primer lugar, una acumulación de grasa en el hígado y, secundariamente, la presencia de grandes cantidades de radicales libres que aumentan el estrés oxidativo. La esteatosis macrovesicular representa la acumulación hepática de triglicéridos, y esto a su vez es debido a un desequilibrio entre el aporte y la utilización de ácidos grasos libres en el hígado. En los periodos de aumento de la ingesta calórica, los triglicéridos se acumularán y actuarán como una fuente de energía de reserva. Cuando las calorías de la dieta son insuficientes, los triglicéridos almacenados (en el tejido adiposo) experimentan lipólisis y los ácidos grasos se liberan a la circulación, desde donde se captan por el hígado. La oxidación de los ácidos grasos proporcionará energía útil. En la actualidad el tratamiento de la EHNA gira alrededor de la reducción de los dos factores patogénicos principales, concretamente, la acumulación de grasa dentro del hígado y la acumulación excesiva de radicales libres causantes de estrés oxidativo. La acumulación de grasa disminuye al reducir la ingesta de grasa, así como aumentando el gasto calórico. Un enfoque terapéutico es la pérdida de peso prolongada y mantenida. Aunque no está definitivamente demostrado, una pérdida de peso corporal >10% ha permitido en algunos casos reducir la acumulación de grasa hepática, normalizar las transaminasas hepáticas y mejorar la inflamación y la fibrosis hepática (Ueno y col., *J Hepatol* 1997;27 (1):103-7; Vajro y col., *J Pediatr* 1994; 125 (2):239-41; Franzese y col., *Dig Dis Sci* 1997; 42 (7):1428-32).
25
30
35
40

La reducción del estrés oxidativo mediante el tratamiento con antioxidantes también ha demostrado su eficacia en algunos estudios. Por ejemplo, los niños obesos con esteatosis se trataron con vitamina E (400 -1000 UI/día) durante 4-10 meses (Lavine *J Pediatr* 2000; 136 (6):734-8). A pesar de cualquier cambio significativo en el IMC, los niveles promedio de ALT disminuyeron de 175 ± 106 UI/L a 40 ± 26 UI/L ($P < 0,01$) y los niveles promedio de AST disminuyeron de 104 ± 61 UI/L a 33 ± 11 UI/L ($P < 0,002$). Las transaminasas hepáticas aumentaron en aquellos pacientes que decidieron suspender el tratamiento con vitamina E. Un estudio en adultos que usó vitamina E durante un año demostró una reducción similar en las transaminasas hepáticas, así como en los niveles del marcador de fibrosis TGF β (Hasegawa y col., *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15 (10):1667-72) .
45

La esteatosis también se puede convertir en esteatohepatitis por el estrés oxidativo debido a las especies de oxígeno reactivo (ROS) y una disminución en la defensa antioxidante (Sanyal y col., *Gastroenterology* 2001; 120 (5):1183-92). Las ROS se pueden generar en el hígado mediante varias rutas incluyendo mitocondria, peroxisomas, citocromo P450, NADPH oxidasa y lipoxigenasa (Sanyal y col., *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005;2(1):46-53). Se ha demostrado que la resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo aumentan el estrés oxidativo hepático y la peroxidación de lípidos mediante un aumento en la actividad del CYP2E1 hepático (Robertson y col., *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281 (5):G1135-9; Leclercq y col., *J Clin Invest* 2000;105(8):1067-75).
50
55

En la actualidad, mucho de lo que se entiende de la patogénesis de la EGHNA ha surgido de los estudios con animales. Existen numerosos modelos en ratón que muestran esteatosis/esteatohepatitis e incluyen modelos genéticamente alterados deficientes en leptina (ob/ob) o resistentes a leptina (db/db) y el modelo de deficiencia alimentaria de metionina/colina (MCD). Se han llevado a cabo estudios que comparan ratas macho y hembra de varias razas (Wistar, Sprague-Dawley, Long-Evans) con una raza de ratón (C57BL/6) como modelos de EHNA. Estos animales se alimentaron durante 4 semanas con una dieta MCD; aunque la elevación en ALT y la esteatosis fueron más notables en la rata Wistar, los cambios histológicos globales en el hígado de los ratones fueron más constantes, debiéndose los cambios a la EHNA. Más recientemente, el uso de dietas supranutritivas en animales ha dado como resultado un modelo de EGHNA que fisiológicamente es más parecido al fenotipo humano. Las
60
65

patologías médicas asociadas con más frecuencia a la EGHNA son la obesidad, la diabetes de tipo II y la dislipidemia. Estas patologías se pueden inducir alimentando ratones y ratas con dietas con alto contenido en grasa o en sacarosa. Las ratas alimentadas con una dieta rica en grasas >70% durante 3 semanas desarrollaron esteatosis panlobular, inflamación del tejido, aumento del estrés oxidativo y aumento en las concentraciones de insulina en plasma, lo que sugiere resistencia a la insulina. Los ratones EHNA se indujeron mediante sobrealimentación intragástrica.

Los ratones se alimentaron con hasta un 85% en exceso de su ingesta normal durante 9 semanas. Los ratones se convirtieron en obesos, con un aumento del 71% en el peso corporal final; demostraron un aumento en el tejido adiposo blanco, hiperglicemia, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. De estos ratones, el 46% desarrolló un aumento en ALT (121 \pm 27 vs 13 \pm 1 U/L) así como rasgos histológicos que sugieren EHNA. Los hígados de los ratones sobrealimentados fueron aproximadamente el doble de grandes de lo esperado, de color beige con evidencia microscópica de gotículas de lípido, vacuolas citoplásmicas y agregados de inflamación.

Los modelos de EHNA en ratón fueron creados mediante dietas específicas (deficientes en metionina colina, MCD) o con sobrealimentación intragástrica. Estos ratones desarrollaron rasgos serológicos e histológicos de EHNA. Los ratones con EHNA son útiles para cribar y medir los efectos de la cisteamina en patologías y trastornos relacionados con EHNA. Por ejemplo, el efecto del tratamiento se puede medir separando los ratones EHNA entre un grupo de control donde los animales continuarán recibiendo solamente dieta MCD, y tres grupos diferentes de tratamiento donde los ratones recibirán dieta MCD así como tratamiento antioxidante. Los tres grupos de tratamiento recibirán cisteamina 50 mg/kg/día, 100 mg/kg/día y SAME.

Cisteamina es una molécula pequeña ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$) capaz de cruzar membranas con facilidad. La cisteamina es un potente secretagogo de ácido gástrico que se ha utilizado en animales de laboratorio para inducir ulceración duodenal; los estudios en seres humanos y animales han demostrado que la hipersecreción de ácido gástrico dependiente de cisteamina está mediada más probablemente por una hipergastrinemia.

Además, los compuestos de sulfhidrilo (SH) tales como cisteamina, cistamina y glutatión se encuentran entre los antioxidantes intracelulares más importantes y activos. La cisteamina protege a los animales contra los síndromes de la médula ósea y gastrointestinal producidos por radiación. El fundamento de la importancia de los compuestos SH está respaldada adicionalmente por observaciones realizada en células mitóticas. Estas son las más sensibles a las lesiones por radiación en términos de muerte reproductiva celular, y se ha señalado que tienen el menor nivel de compuestos SH. Inversamente, las células en fase S, que son las más resistentes a las lesiones por radiación usando los mismos criterios, han demostrado los mayores niveles de compuestos SH inherentes. Además, cuando las células mitóticas se trataron con cisteamina se convirtieron en muy resistentes a la radiación. También se ha señalado que la cisteamina puede proteger directamente las células contra mutaciones inducidas. Se cree que la protección es el resultado del secuestro de radicales libres, bien directamente o bien mediante la liberación de GSH unido a proteína. Se ha notificado en hígado de ave y riñón de cerdo una enzima que libera cisteamina a partir de coenzima A. Estudios recientes publicados demuestran un efecto protector de la cisteamina contra los agentes hepatotóxicos acetaminofén, bromobenceno, y faloidina.

Se ha descubierto que la cisteamina, además de su papel como radioprotector, alivia temblores y prolonga la vida en ratones con la mutación génica de la enfermedad de Huntington (EH). El fármaco puede actuar aumentando la actividad de las proteínas que protegen las células nerviosas, o neuronas, de la degeneración. Parece que la cisteamina inactiva una enzima llamada transglutaminasa y, de este modo, da como resultado una reducción en la proteína huntingtina (Nature Medicine 8, 143-149, 2002). Además, se ha descubierto que la cisteamina aumenta los niveles de algunas proteínas neuroprotectoras. Sin embargo, debido a los métodos actuales y a la formulación del suministro de cisteamina, la degradación y la mala captación requieren una dosificación excesiva.

En la actualidad, la cisteamina está autorizada por la FDA solamente para el tratamiento de la cistinosis. Los pacientes con cistinosis deben tomar habitualmente cisteamina cada 6 horas. Idealmente, una preparación eficaz de liberación controlada de cisteamina posiblemente con una administración dos veces al día mejoraría la calidad de vida de estos pacientes.

Las composiciones de la divulgación pueden contener cualquier cisteamina o sal de cisteamina. Los principios activos de la composición, es decir la cisteamina, se puede administrar en forma de una sal, amida, profármaco o análogo farmacéuticamente aceptables, o una combinación de los anteriores. Las sales, amidas, profármacos y análogos de los principios activos se pueden preparar utilizando métodos normalizados conocidos de los expertos en la materia de la química orgánica sintética y descritos, por ejemplo por J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure," 4^ª Ed. (Nueva York: Wiley-Interscience, 1992). Por ejemplo, las sales de adición básicas se preparan a partir del fármaco neutro utilizando medios convencionales, que implican la reacción de uno o más de los grupos hidroxilo libres del principio activo con una base adecuada. En general, la forma neutra del fármaco se disuelve en un disolvente polar orgánico tal como metanol o etanol y la base se añade a lo anterior. La sal resultante bien precipita o bien se puede extraer de la disolución por adición de un disolvente menos polar. Las bases adecuadas para formar las sales de adición básicas incluyen, pero no se limitan a, bases inorgánicas

tales como hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido amónico, hidróxido cálcico, trimetilamina, o similares. La preparación de ésteres implica funcionalizar los grupos hidroxilo que puedan estar presentes en la estructura molecular del fármaco. Los ésteres suelen ser derivados sustituidos con acilo de grupos alcohol libres, es decir, restos que se han derivado de ácidos carboxílicos de fórmula R-COOH donde R es alquilo, y de forma típica es alquilo inferior. Los ésteres se pueden volver a convertir en los ácidos libres, si se desea, utilizando métodos convencionales de hidrogenólisis o hidrólisis. La preparación de amidas y profármacos se puede llevar a cabo de forma análoga. Otros derivados y análogos de los principios activos se pueden preparar utilizando técnicas normalizadas conocidas del experto en la materia de la química orgánica sintética, o se pueden deducir de la bibliografía pertinente.

Los métodos de las composición de la divulgación proporcionan además composiciones provistas de recubrimiento entérico que dan como resultado una dosificación menos frecuente (2X/día vs. 4X/día), aumentando el cumplimiento terapéutico y disminuyendo los efectos secundarios gastrointestinales (*por ejemplo*, dolor, ardor de estómago, producción de ácido, vómito) y otros efectos secundarios (*por ejemplo*, pacientes que huelen a huevos podridos – un problema concreto del cumplimiento terapéutico cuando los sujetos alcanzan la pubertad). La divulgación proporciona composiciones de cisteamina provistas de un recubrimiento entérico (sulfidrilol/ CYSTAGON®) y composiciones de cisteamina.

La divulgación proporciona métodos para tratar la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

La eficacia de un método o composición de los descritos en el presente documento se puede evaluar, por ejemplo, midiendo las concentraciones de cistina leucocitaria. Las medidas adicionales para evaluar la eficacia de los métodos de la divulgación incluyen evaluar el alivio de los síntomas asociados con la enfermedad grasa hepática incluyendo fibrosis hepática, contenido en grasa del hígado, incidencia o progreso de cirrosis, incidencia de carcinoma hepatocelular, niveles elevados de aminotransferasas hepáticas, aumento en la alanina aminotransferasa (ALT), aumento en la aspartato aminotransferasa (AST), y aumento en la ferritina sérica. El ajuste de la dosificación y el tratamiento se puede realizar por un médico especialista a partir de, por ejemplo, la gravedad de la enfermedad grasa hepática y/o la concentración de cistina. Por ejemplo, el tratamiento de la enfermedad grasa hepática puede dar como resultado una reducción en la transaminasa hepática de entre aproximadamente 10% y 40% comparado con niveles anteriores al tratamiento. En una realización relacionada, el tratamiento da como resultado una reducción en los niveles de alanina aminotransferasa en un paciente tratado a aproximadamente 30%, 20% o 10% por encima de los niveles de ALT normales, o en los niveles de ALT normales (≥ 40 U/l). En otra realización, el tratamiento con cisteamina da como resultado una reducción en los niveles de aspartato aminotransferasa en un paciente a aproximadamente 30%, 20% o 10% por encima de los niveles normales de AST o vuelta a los niveles normales de AST.

La divulgación analiza métodos para tratar NASH usando cisteaminas mediante la reducción de la tensión oxidativa provocada por especies reactivas de oxígeno (ROS) en esteatohepatitis. La cisteamina puede conseguir esto mediante su capacidad directa o indirecta para potenciar los niveles de glutatión dentro del hígado. El glutatión tiene un efecto protector contra el daño oxidativo pero por sí mismo no entra fácilmente en las células, incluso cuando se proporciona en tratamiento de grandes cantidades. Los precursores de glutatión, sin embargo, si entran en las células e incluyen cisteína, N-acetilcisteína, s-adenosilmetionina (SAME) y otros compuestos que contienen azufre tales como cisteamina.

Las composiciones de la divulgación se pueden usar en combinación con un segundo agente u otras terapias útiles para tratar NASH. Por ejemplo, las composiciones de cisteamina se pueden administrar con fármacos tales como glitazonas/tiazolidendionas que combaten la resistencia a la insulina, incluyendo mesilato (troglitazona (REZULIN®)), rosiglitazona (AVANDIA®), pioglitazona (ACTOS®), así como otros agentes, incluyendo, metformina, Sulfonilureas, Inhibidores de alfa glucosidasa, Meglitinidas, vitamina E, tetrahidrolipstatina (XENICAL™), proteína del cardo mariano (SILIPHOS®), y antivirales.

Otras terapias que reducen los efectos secundarios de las cisteaminas se pueden combinar con los métodos y composiciones de la divulgación para tratar enfermedades y trastornos que se atribuyen o resultan de NASH. La pérdida de fósforo urinaria, por ejemplo, implica raquitismo y puede ser necesario proporcionar un complemento de fósforo. La carnitina se pierde en la orina y los niveles en sangre son bajos. La carnitina permite que los músculos usen grasa para proporcionar energía. En ocasiones es necesaria la complementación hormonal. En ocasiones la glándula tiroidea no producirá suficientes hormonas tiroideas. Esta se proporciona como tiroxina (gotas o comprimidos). En ocasiones es necesario tratamiento con insulina si aparece diabetes, cuando el páncreas no produce suficiente insulina. Estos tratamientos se han convertido, en pocas ocasiones, necesarios en niños que se tratan con cisteamina, puesto que el tratamiento protege al tiroides y al páncreas. Algunos chicos adolescentes requieren un tratamiento con testosterona si la pubertad es tardía. Puede indicarse terapia de hormona del crecimiento si el crecimiento no es suficiente a pesar de un buen equilibrio de hidroelectrolitos. En consecuencia, dichas terapias se pueden combinar con la cisteamina y los métodos de la divulgación. Las terapias adicionales, incluyendo el uso de omeoprazol (PRILOSEC®), pueden reducir los síntomas adversos que afectan al tracto digestivo.

La divulgación proporciona cisteaminas útiles en el tratamiento de NASH. Para administrar cisteamina de la divulgación a seres humanos o animales de ensayo, es preferible formular la cisteamina en una composición que comprenda uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Como se ha expuesto anteriormente, los vehículos o excipientes farmacéuticamente o farmacológicamente aceptables se refieren a entidades moleculares y composiciones que no producen reacciones alérgicas, u otras adversas, cuando se administran usando vías bien conocidas en la técnica, como se describe posteriormente, o están aprobadas por la Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos o una autoridad reguladora extranjera homóloga como un aditivo aceptable para productos farmacéuticos administrados por vía oral o vía parenteral. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción clínicamente útiles.

Los vehículos farmacéuticos incluyen sales farmacéuticamente aceptables, particularmente cuando está presente un grupo básico o ácido en un compuesto. Por ejemplo, cuando está presente un sustituyente ácido, tal como --COOH, se contemplan para administración las sales de amonio, sodio, potasio y calcio. Adicionalmente, cuando está presente un grupo ácido, se contemplan ésteres farmacéuticamente aceptables del compuesto (por ejemplo, metilo, *tert*-butilo, pivaloiloximetilo y succinilo) como formas preferentes de los compuestos, conociéndose dichos ésteres en la técnica para modificar las características de solubilidad y/o hidrólisis para su uso como formulaciones de profármaco o liberación prolongada.

Cuando está presente un grupo básico (tal como amino o un radical de heteroarilo básico, tal como piridilo), entonces se contempla como forma para la administración una sal ácida, tal como clorhidrato, bromohidrato, acetato, maleato, pamoato, fosfato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato.

Además, los compuestos pueden formar solvatos con agua o disolventes orgánicos comunes. También se contemplan dichos solvatos.

La cisteamina se puede administrar por vía oral, por vía parenteral, por vía transocular, por vía intranasal, por vía transdérmica, por vía transmucosa, por pulverización de inhalación, por vía vaginal, por vía rectal o por inyección intracraneal. El término parenteral como se usa en el presente documento incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, intramuscular, intracisternal o técnicas de infusión. También se contempla la administración por inyección intravenosa, intradérmica, intramuscular, intramamaria, intraperitoneal, intratecal, retrobulbar, intrapulmonar y/o implantación quirúrgica en un sitio particular. Generalmente, las composiciones para administración por cualquiera de los métodos anteriores son esencialmente sin pirógenos, así como otras impurezas que podrían ser perjudiciales para el receptor. Además, las composiciones para administración por vía parenteral son estériles.

Las composiciones farmacéuticas de la divulgación que contienen una cisteamina como un principio activo pueden contener vehículos o aditivos farmacéuticamente aceptables dependiendo de la vía de administración. Los ejemplos de dichos vehículos o aditivos incluyen agua, un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable, colágeno, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, un polímero de carboxivinilo, carboximetilcelulosa sódica, sodio poliacrílico, alginato sódico, dextrano soluble en agua, carboximetil almidón sódico, pectina, metil celulosa, etil celulosa, goma de xantano, goma arábiga, caseína, gelatina, agar, diglicerina, glicerina, propilenglicol, polietilenglicol, Vaselina, parafina, alcohol estearílico, ácido esteárico, albúmina de suero humano (HSA), manitol, sorbitol, lactosa, y un tensoactivo farmacéuticamente aceptable. Los aditivos usados se seleccionan entre los anteriores o combinaciones de los mismos, según sea apropiado, dependiendo de la forma de dosificación de la divulgación.

La formulación de la composición farmacéutica variará según la vía de administración seleccionada (*por ejemplo*, solución, emulsión). Una composición apropiada que comprende la cisteamina a administrar se puede preparar en un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable. Para soluciones o emulsiones, los vehículos adecuados incluyen, por ejemplo, soluciones acuosas o alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo solución salina y medios tamponados. Los vehículos parenterales pueden incluir solución de cloruro sódico, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro sódico, Ringer lactado o aceites fijos. Los vehículos intravenosos pueden incluir diversos aditivos, conservantes, o reponedores de líquido, nutrientes o electrolitos.

Una diversidad de vehículos acuosos, *por ejemplo*, agua, agua tamponada, solución salina al 0,4%, glicina al 0,3% o suspensiones acuosas pueden contener el compuesto activo en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; los agentes de dispersión o humectantes pueden ser una fosfatida de origen natural, por ejemplo lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoicetanol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietileno sorbitán.

Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo etilo, o n-propilo, p-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saporíferos y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

5 En algunas realizaciones, la cisteamina de la presente divulgación se puede liofilizar para almacenamiento y reconstituirse en un vehículo adecuado antes de su uso. Se puede usar cualquier técnica de liofilización y reconstitución adecuada. Los expertos en la materia aprecian que la liofilización y la reconstitución pueden conducir a diversos grados de pérdida de actividad y que los niveles de uso pueden tener que ajustarse para compensar.

10 Polvos y gránulos dispersables adecuados para preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan al compuesto activo en mezcla un agente de dispersión o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes de dispersión o humectantes adecuados y agentes de suspensión se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, saporíferos y colorantes.

15 En una realización, la divulgación proporciona el uso de una cisteamina recubierta de forma entérica. Los recubrimientos entéricos prolongan la liberación hasta que la cisteamina alcanza el tracto intestinal, típicamente el intestino delgado. Debido a los recubrimientos entéricos, el suministro al intestino delgado se mejora, mejorando de este modo la captación del principio activo reduciendo a la vez los efectos secundarios gástricos.

20 En algunas realizaciones, el material de recubrimiento se selecciona de modo que el agente terapéuticamente activo se libera cuando la forma de dosificación alcanza el intestino delgado o una región en la que el pH es mayor de pH 4,5. El recubrimiento puede ser un material sensible a pH, que permanece intacto en ambientes de pH menor del estómago, pero que se disgrega o disuelve al pH encontrado habitualmente en el intestino delgado del paciente. Por ejemplo, el material de recubrimiento entérico comienza a disolverse en una solución acuosa a pH entre aproximadamente 4,5 y aproximadamente 5,5. Por ejemplo, los materiales sensibles a pH no experimentarán disolución significativa hasta que la forma de dosificación se haya vaciado del estómago. El pH del intestino delgado aumenta gradualmente de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,5 en el bulbo duodenal a aproximadamente 7,2 en las partes distales del intestino delgado. Para proporcionar disolución predecible correspondiente al tiempo de tránsito del intestino delgado de aproximadamente 3 horas (*por ejemplo*, 2-3 horas) y permitir liberación reproducible en el mismo, el recubrimiento debería comenzar a disolverse en el intervalo de pH dentro del intestino delgado. Por lo tanto, la cantidad de recubrimiento polimérico entérico debería ser suficiente para disolverse sustancialmente durante el tiempo de tránsito de aproximadamente tres horas dentro del intestino delgado, tal como el intestino próximo y medio.

35 Se han usado recubrimientos entéricos durante muchos años para detener la liberación del fármaco de formas de dosificación ingeribles por vía oral. Dependiendo de la composición y/o grosor, los recubrimientos entéricos son resistentes al ácido estomacal durante periodos de tiempo requeridos antes de comenzar a disgregarse y permitir la liberación del fármaco en el estómago inferior o parte superior del intestino delgado. Se divulgan ejemplos de algunos recubrimientos entéricos en la Patente de Estados Unidos N° 5.225.202. Como se expone en la Patente de Estados Unidos N° 5.225.202, algunos ejemplos de recubrimiento previamente empleados son cera de abejas y monoestearato de glicerilo, cera de abejas, goma laca y celulosa; y alcohol cetílico, mástique y goma laca, así como goma laca y ácido esteárico (Patente de Estados Unidos N° 2.809.918); acetato de polivinilo y etil celulosa (Patente de Estados Unidos N° 3.835.221); y copolímero neutro de ésteres de ácido polimetacrílico (Eudragit L30D) (F. W. Goodhart *et al.*, Pharm. Tech., págs. 64-71, Abril de 1984); copolímeros de ácido metacrílico y metiléster de ácido metacrílico (Eudragits), o un copolímero neutro de ésteres de ácido polimetacrílico que contienen estearatos metálicos (Mehta *et al.*, Patentes de Estados Unidos N° 4.728.512 y 4.794.001). Dichos recubrimientos comprenden mezclas de grasas y ácidos grasos, goma laca y derivados de goma laca y los ftalatos ácidos de celulosa, *por ejemplo*, los que tienen un contenido de carboxilo libre. Véase, Remington en la página 1590 y Zeitova *et al.* (Patente de Estados Unidos N° 4.432.966), para descripciones de composiciones de recubrimiento entérico adecuadas. En consecuencia, la absorción aumentada en el intestino delgado debido a recubrimientos entéricos de composiciones de cisteamina puede dar como resultado eficacia mejorada.

55 Generalmente, el recubrimiento entérico comprende un material polimérico que evita la liberación de cisteamina en el ambiente de pH bajo del estómago pero que se ioniza a un pH ligeramente mayor, típicamente un pH de 4 o 5, y por lo tanto se disuelve suficientemente en el intestino delgado para liberar gradualmente el agente activo en el mismo. En consecuencia, entre los materiales de recubrimiento entérico más eficaces están los poliácidos que tienen una pKa en el intervalo de aproximadamente 3 a 5. Los materiales de recubrimiento entérico adecuados incluyen gelatina polimerizada, goma laca, copolímero de ácido metacrílico de tipo CNF, butirato ftalato de celulosa, hidrógeno ftalato de celulosa, propionato ftalato de celulosa, acetato ftalato de polivinilo (PVAP), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, acetato de hidroxipropil metilcelulosa, succinato de dioxipropil metilcelulosa, carboximetil etilcelulosa (CMEC), acetato succinato de hidroxipropil metilcelulosa (HPMCAS) y polímero y copolímeros de ácido acrílico, típicamente formados a partir de acrilato de metilo, acrilato de etilo, metacrilato de metilo y/o metacrilato de etilo con copolímeros de ésteres de ácido acrílico y metacrílico (Eudragit NE, Eudragit RL, Eudragit RS). Por ejemplo, el recubrimiento entérico puede comprender Eudragit L30D, trietilcitrato, e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), en los que el recubrimiento comprende

de un 10 a un 13% del producto final.

En una realización, la cisteamina se administra en forma de comprimidos. Los comprimidos se fabrican recubriendo en primer lugar la cisteamina de forma entérica. Un método para formar comprimidos en el presente documento es por compresión directa de los polvos que contienen la cisteamina recubierta de forma entérica, opcionalmente en combinación con diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, colorantes o estabilizantes. Como alternativa para dirigir la compresión, los comprimidos realizados por compresión se pueden preparar usando procesos de granulación húmeda o granulación seca. Los comprimidos también se pueden moldear en lugar de comprimirse, comenzando con un material húmedo que contiene un lubricante soluble en agua adecuado.

En algunas realizaciones, la cisteamina es una forma de dosificación de liberación retardada o controlada que proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ de la cisteamina que es al menos aproximadamente un 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% o 100% mayor que la $C_{m\acute{a}x}$ proporcionada por una forma de dosificación de liberación inmediata que contenga la misma cantidad de la cisteamina. En algunas realizaciones, la $C_{m\acute{a}x}$ es de hasta aproximadamente un 75%, 100%, 125% o 150% mayor que la $C_{m\acute{a}x}$ de la forma de dosificación de liberación inmediata. $C_{m\acute{a}x}$ se refiere a la dosis máxima de la cisteamina en sangre después de la dosificación y proporciona un indicador de que el fármaco se absorbe de forma sistémica.

En algunas realizaciones, la AUC de la forma de dosificación de liberación retardada o controlada también aumenta en al menos aproximadamente un 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% o 50% o hasta aproximadamente un 50%, 60%, 75% o 100% en relación con una forma de dosificación de liberación inmediata. AUC o "área bajo la curva" se refiere a la curva cinética derivada cuando se mide la concentración de fármaco en plasma frente al tiempo después de la dosificación de un fármaco.

La preparación de formas de liberación controlada o sostenida/prolongada de composiciones farmacéuticas con las características farmacocinéticas deseadas se conoce en la técnica y se puede conseguir por una diversidad de métodos. Por ejemplo, los sistemas de suministro controlado oral incluyen liberación de disolución controlada (*por ejemplo*, control de disolución de encapsulación o control de disolución de matriz), liberación de difusión controlada (dispositivos de depósito o dispositivos de matriz), resina de intercambio iónico, sistemas de liberación controlada osmótica o gastrorretentivos. Puede obtenerse liberación con disolución controlada, *por ejemplo*, ralentizando la velocidad de disolución de un fármaco en el tracto gastrointestinal, incorporando el fármaco en un polímero insoluble y recubriendo las partículas de fármaco o gránulos con materiales poliméricos de diverso grosor. Puede obtenerse liberación con difusión controlada, *por ejemplo*, controlando la difusión a través de una membrana polimérica o una matriz polimérica. Puede obtenerse liberación osmóticamente controlada, *por ejemplo*, controlando el flujo de disolvente a través de una membrana semipermeable, que a su vez porta el fármaco fuera a través de un orificio taladrado por láser. Las diferencias de presión osmótica e hidrostática en cada lado de la membrana controlan el transporte de fluido. Puede conseguirse retención gástrica prolongada, *por ejemplo*, alterando la densidad de las formulaciones, bioadhesión al revestimiento del estómago, o aumentando el tiempo de flotación en el estómago. Para más detalles, véase el Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Wise, ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, NY (2000), incorporado por referencia en el presente documento en su totalidad, *por ejemplo* el Capítulo 22 ("An Overview of Controlled Release Systems").

La concentración de cisteamina en estas formulaciones puede variar ampliamente, por ejemplo, de menos de aproximadamente un 0,5%, habitualmente a o al menos aproximadamente un 1% hasta tanto como un 15 o un 20% en peso y se selecciona principalmente basándose en volúmenes de fluido, características de fabricación, viscosidades, etc., de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado. Métodos reales para preparar composiciones que se pueden administrar son conocidos o evidentes para los expertos en la materia y se describen en más detalle, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Science, 15ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980).

La cisteamina está presente en una cantidad terapéuticamente eficaz; típicamente, está en forma de dosificación unitaria. La cantidad de cisteamina administrada dependerá, por supuesto, de la edad, peso y condición general del sujeto, la gravedad de la afección que se está tratando, y el criterio del médico que la prescribe. Los expertos en la materia conocerán las cantidades terapéuticas adecuadas y/o estas se describen en los textos de referencia pertinentes y la bibliografía. Las dosis de recubrimiento no entérico actuales son de aproximadamente 1,35 g/m² de área de superficie corporal y se administran 4-5 veces al día. En un aspecto, la dosis se administra una vez al día o múltiples veces al día. La cisteamina se puede administrar una, dos o tres o cuatro o cinco veces al día. En algunas realizaciones, una dosificación eficaz de cisteamina puede estar dentro del intervalo de 0,01 mg a 1000 mg por kg (mg/kg) de peso corporal por día. Además, la dosis eficaz puede ser 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 55 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 75 mg/kg, 80 mg/kg, 90 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg, 200 mg/kg, y se pueden aumentar en incrementos de 25 mg/kg hasta 1000 mg/kg o pueden variar entre dos cualesquiera de los valores anteriores. En algunas realizaciones, la cisteamina se administra a una dosis diaria total de aproximadamente 0,25 g/m² a 4,0 g/m² de área de superficie corporal, *por ejemplo*, al menos aproximadamente 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,2, 2,5, 2,7, 3,0, o 3,5 g/m². En algunas realizaciones, la cisteamina se puede administrar a una dosis diaria total de

- aproximadamente 1-1,5 g/m² de área de superficie corporal, o 0,5-1 g/m² de área de superficie corporal, o de aproximadamente 0,7-0,8 g/m² de área de superficie corporal, o aproximadamente 1,35 g/m² de área de superficie corporal. Las sales del mismo principio activo pueden variar en peso molecular dependiendo del tipo y peso del resto de sal. Para la administración de la forma de dosificación, *por ejemplo*, un comprimido o cápsula u otra forma de dosificación oral que comprende la cisteamina recubierta de forma entérica, se usa un peso total en el intervalo de aproximadamente 100 mg a 1000 mg. La forma de dosificación se administra por vía oral a un paciente que padece NASH para el que se indicaría una cisteamina. La administración puede continuar durante al menos 3 meses, 6 meses, 9 meses, 1 año, 2 años o más.
- 10 Composiciones útiles para la administración se pueden formular con potenciadores de la captación o absorción para aumentar su eficacia. Dicho potenciador incluye por ejemplo, salicilato, glicocolato/linoleato, glicolato, aprotinina, bacitracina, SDS y caprato. Véase, *por ejemplo*, Fix (J. Pharm. ScL, 85: 1282-1285, 1996) y Oliyay y Stella (Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32: 521-544, 1993).
- 15 La cisteamina recubierta de forma entérica puede comprender diversos excipientes, como se conoce bien en la técnica farmacéutica, siempre que dichos excipientes no muestren un efecto desestabilizador en ningún componente en la composición. Por lo tanto, excipientes tales como aglutinantes, agentes de masificación, diluyentes, disgregantes, lubricantes, cargas y vehículos pueden combinarse con la cisteamina. Para composiciones sólidas, son típicamente necesarios diluyentes para aumentar el volumen de un comprimido de modo que se proporcione un tamaño práctico para comprensión. Los diluyentes adecuados incluyen fosfato dicálcico, sulfato cálcico, lactosa, celulosa, caolina, manitol, cloruro sódico, almidón seco y azúcar en polvo. Los aglutinantes se usan para transmitir cualidades cohesivas a una formulación de comprimido, y asegurar de este modo que un comprimido permanezca intacto después de su comprensión. Los materiales aglutinantes adecuados incluyen, almidón (incluyendo almidón de maíz y almidón pregelatinizado), gelatina, azúcares, (incluyendo sacarosa, glucosa, dextrosa y lactosa), polietilenglicol, ceras y gomas naturales y sintéticas, *por ejemplo*, alginato sódico de acacia, polivinilpirrolidona, polímeros celulósicos (incluyendo hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, metilcelulosa e hidroxietilcelulosa) y Veegum. Se usan lubricantes para facilitar la fabricación de comprimidos; los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato cálcico, y ácido esteárico y están típicamente presentes a no más de aproximadamente un 1 por ciento en peso en relación con el peso del comprimido. Se usan disgregantes para facilitar la disgregación del comprimido o "rotura" después de la administración, y son generalmente almidones, arcillas, celulosas, alginas, gomas o polímeros reticulados. Si se desea, la composición farmacéutica a administrar también puede contener cantidades menores de sustancias adyuvantes no tóxicas tales como agentes humectantes o emulgentes y agentes tamponantes de pH, por ejemplo, acetato sódico, monolaurato de sorbitán, trietanolamina acetato sódico y oleato de tretanolamina. Si se desea, también se pueden añadir agentes saporíferos, colorantes y/o edulcorantes. Otros componentes opcionales para incorporación en una formulación oral en el presente documento incluyen conservantes, agentes de suspensión y agentes espesantes. Las cargas incluyen, por ejemplo, materiales insolubles tales como dióxido de silicio, óxido de titanio, alúmina, talco, caolín, celulosa en polvo y celulosa microcristalina, así como materiales solubles tales como manitol, urea, sacarosa, lactosa, dextrosa, cloruro sódico y sorbitol.
- 40 Una composición farmacéutica también puede comprender un agente estabilizador tal como hidroxipropil metilcelulosa o polivinilpirrolidona, como se desvela en la Patente de Estados Unidos N° 4.301.146. Otros agentes estabilizadores incluyen polímeros celulósicos tales como hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, metil celulosa, etil celulosa, acetato de celulosa, acetato ftalato de celulosa, acetato trimetilato de celulosa, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica, y polímeros y copolímeros de vinilo tales como acetato de polivinilo, acetato ftalato de polivinilo, copolímero de ácido crotónico y acetato de vinilo y copolímeros de etileno-acetato de vinilo. El agente estabilizador está presente en una cantidad eficaz para proporcionar el efecto estabilizador deseado; generalmente, esto significa que la relación de cisteamina y el agente estabilizador es de al menos aproximadamente 1:500 p/p, más habitualmente aproximadamente 1:99 p/p.
- 50 Los comprimidos se pueden fabricar recubriendo en primer lugar de forma entérica la cisteamina. Un método para formar comprimidos en el presente documento es por compresión directa de los polvos que contienen la cisteamina recubierta de forma entérica, opcionalmente en combinación con diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, colorantes o estabilizadores. Como una alternativa a la compresión directa, se pueden preparar comprimidos preparados por compresión usando procesos de granulación húmeda o granulación seca. Los comprimidos también se pueden moldear en lugar de comprimirse, comenzando con un material húmedo que contiene un lubricante soluble en agua adecuado.
- 60 En una realización alternativa, las cisteaminas recubiertas de forma entérica se granulan y la granulación se comprime en un comprimido o se carga en una cápsula. Los materiales de cápsula pueden ser duros o blandos, y típicamente están sellados, tal como con bandas de gelatina. Los comprimidos y cápsulas para uso oral generalmente incluirán uno o más excipientes usados habitualmente como se analiza en el presente documento.
- 65 Para la administración de la forma de dosificación, es decir, el comprimido o cápsula que comprende la cisteamina recubierta de forma entérica, se usa un peso total en el intervalo de aproximadamente 10 mg a 1000 mg. La forma de dosificación se administra por vía oral a un paciente que padezca NASH.

Las composiciones de la divulgación se pueden usar en combinación con otras terapias útiles para tratar NAFL y NASH. Por ejemplo, se pueden administrar antioxidantes tales como glicirricina, extracto de schisandra, ácido ascórbico, glutatión, silimarina, ácido lipoico y d-alfa-tocoferol y administrar por vía parenteral al sujeto glicirricina, ácido ascórbico, glutatión y complejo de vitamina B en combinación (simultáneamente en una única composición o en composiciones separadas). Como alternativa, la combinación de productos terapéuticos se puede administrar de forma secuencial.

La eficacia de un método o composición de la divulgación se puede evaluar midiendo el contenido de ácidos grasos y el metabolismo en el hígado. Puede realizarse ajuste de la dosificación y terapia por un especialista médico dependiendo de, por ejemplo, la gravedad de NASH.

Además, diversos profármacos se pueden "activar" mediante el uso de la cisteamina recubierta de forma entérica. Los profármacos son farmacológicamente inertes, en sí mismos no actúan en el cuerpo, pero una vez que se han absorbido, el profármaco se descompone. El enfoque del profármaco se ha usado con éxito en varias áreas terapéuticas incluyendo antibióticos, antihistamínicos y tratamientos de úlceras. La ventaja de usar profármacos es que el agente activo está camuflado químicamente y no se libera agente activo hasta que el fármaco se ha repartido en el intestino y en las células del organismo. Por ejemplo, varios profármacos usan enlaces S-S. Los agentes reductores débiles, tales como cisteamina, reducen estos enlaces y liberan el fármaco. En consecuencia, las composiciones de la divulgación son útiles en combinación con profármacos para liberación temporalizada del fármaco. En este aspecto, un profármaco se puede administrar seguido de administración de una composición de cisteamina recubierta de forma entérica de la divulgación (en un momento deseado) para activar el profármaco.

Ejemplos

25 Ejemplo comparativo 1

Formulación de Cisteamina Recubierta de Forma Entérica. La Publicación Internacional N° WO 2007/089670 describió la administración de cisteamina a pacientes con cistinosis usando un tubo nasoentérico para determinar la eficacia de la administración entérica sobre la mejora de los pacientes con cistinosis. El documento WO 2007/089670 mostró que la administración de cisteamina por vía entérica mejoraba la tasa de absorción de cisteamina y aumentaba los niveles de cisteamina en plasma. La administración entérica también redujo los niveles de cistina en los leucocitos. Estos resultados mostraron que la cisteamina entérica era más eficaz que la administración oral de cisteamina.

Se creó una preparación recubierta de forma entérica sobre cisteamina (Cystagon-EC) para una administración más eficaz y más sencilla. Se recubrieron de forma entérica cápsulas CYSTAGON® (Mylan Laboratories Inc., PA, Estados Unidos) usando una unidad de recubrimiento Wurster Modelo 600 con una cámara de recubrimiento de 10,16/15,24 cm. El material de recubrimiento es Eudragit L30 D-55, Rohm GmbH & Co KG, Darmstadt, Alemania) y el compuesto EC se encapsuló (The Coating Place Inc, Verana, WI, establecimiento de las instalaciones Federales número 2126906). Se produjeron cápsulas usando instalaciones y materiales aprobados por la FDA.

El recubrimiento entérico se ensayó *in vitro* para verificar la insolubilidad de las cápsulas en ácido gástrico. Se realizaron ensayos situando las cápsulas en 100 ml de solución de HCl 0,1 N durante 2 horas a 37 °C. Las cápsulas se consideran aceptables si se libera menos de un 10% de la cisteamina. Después de 2 horas, el pH de la solución se eleva a pH 6,8 con tampón de NaHCO₃. Las cápsulas se consideran aceptables si se libera al menos un 80% de la cisteamina en un periodo de 2 horas.

Se han estudiado seis sujetos de control adultos y 6 pacientes con cistinosis usando el Cystagon-EC. Los niveles de cisteamina en plasma fueron mayores cuando el paciente tomó Cystagon-EC que cuando tomó la preparación de cisteamina habitual (CYSTAGON®). Además, cuando los pacientes con cistinosis tomaron Cystagon-EC los niveles de cistina en los glóbulos blancos mínimos de 12 horas permanecieron a aproximadamente < 0,2 y habitualmente por debajo de 1 nmol de semicistina/mg de proteína, lo que sugiere que esta nueva formulación de cisteamina es eficaz cuando se proporciona dos veces al día.

55 Ejemplo 2

Administración de Cisteamina a Pacientes que Padecen Enfermedad de Hígado Graso. Se ha mostrado que la administración de cisteamina alivia los síntomas de cistinosis reduciendo los niveles de cistina perjudicial. Para determinar el efecto de cisteamina en la fibrosis que provoca daño hepático en pacientes con NASH, se realiza un estudio piloto no aleatorio abierto de 12 niños y adolescentes con enfermedad grasa no alcohólica tratada con cisteamina recubierta de forma entérica.

Se usan pacientes con un diagnóstico establecido de NASH, que han experimentado cambios de estilo de vida (tales como dieta y ejercicio) durante al menos tres meses, para el estudio. Se realiza un historial y examen físico completo. Se usa una puntuación de síntomas ideada para la enfermedad de ácido péptico y previamente usada en niños que tomaban cisteamina. Se extrae sangre para las funciones hepáticas incluyendo transaminasa hepáticas,

fosfatasa alcalina, bilirrubina y gamma-GT. También se toma sangre para recuento sanguíneo completo, ESR, CRP, insulina en ayunas y perfil de lípidos y colesterol en ayunas, marcadores de tensión oxidativa y de fibrosis hepática (total 15 ml). Se registra el peso de los pacientes.

5 El nivel de entrada en el estudio para ALT se define como ≥ 60 ui/l y una respuesta exitosa a la terapia es la normalización o la reducción $> 35\%$ en el nivel de transaminasa hepática. Un nivel de ALT normal se define como 40 ui/l. Los sujetos comienzan a tomar cisteamina recubierta de forma entérica dos veces al día a una dosis diaria total de 1 g/m^2 de área de superficie corporal con una dosis máxima de 1000 mg dos veces al día. Los pacientes con cistinosis normalmente toman $1\text{-}1,5 \text{ g/m}^2$ de área de superficie corporal/día.

10 Se podrá reducir la dosis diaria de cisteamina en un 10% a cualquier sujeto que se queje de síntomas gastrointestinales significativos. Si los síntomas GI persisten durante 3 días a pesar de una reducción de un 10% en la dosificación, entonces se permitirán disminuciones adicionales de un 10% en la dosificación (hasta un máximo de un 50% de la dosis original).

15 Si persisten los síntomas a pesar de la reducción máxima de la dosis de cisteamina-EC, el sujeto se retira del estudio.

Si los síntomas son graves, los sujetos pueden salir del estudio en cualquier momento. Si los pacientes estuvieran con terapia de supresión de ácidos tal como inhibidores de bomba de protones, se les pide detener la terapia una semana antes de comenzar con EC-cisteamina. Los pacientes se tratan inicialmente durante 3 meses, y durante un máximo de 6 meses con EC-cisteamina. Si se detecta una reducción de un 10-25% en los niveles de transaminasa hepática entonces el tratamiento se prolonga durante 3 meses adicionales. Si, sin embargo, hay una reducción $<10\%$ del nivel de ALT después de 3 meses de terapia, el sujeto no participará más en el estudio. Si hay una mejora de los niveles de transaminasa hepática en suero ($>35\%$) después de seis meses de terapia, entonces los pacientes se controlan durante seis meses adicionales con un examen físico y los mismos ensayos de sangre realizados cada dos meses. Las mujeres en menstruación se someterán a una prueba de embarazo en sangre al comienzo y cada mes durante el estudio. Si resulta apropiado, se recomienda a los pacientes tomar precauciones anticonceptivas usando un método de doble barrera.

20 Se pide a los pacientes que mantengan un diario de los síntomas y también se verán en la clínica/GCRC para obtener información acerca de la cual se les oculta la identidad del fármaco de estudio del paciente. Se usa una puntuación de síntomas ideada para la enfermedad de ácido péptico y previamente usada en niños que tomaban cisteamina. Cada 4 semanas se repetirán pruebas sanguíneas a los pacientes incluyendo ensayos de la función hepática, recuento de sangre completa y niveles de cisteamina en plasma (10 ml). Al final del estudio, los pacientes
25
30
35 habrán repetido todos los ensayos de laboratorio de línea basal.

Ejemplo 3

40 El efecto de una cisteamina se evaluó en un modelo dietético animal de enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), llevado a cabo generalmente como se describe en Otagawa *et al.*, Am. J. Pathol., 170(3): 967-980 (2007). Se alimentaron conejos blancos macho de Nueva Zelanda con una dieta alta en grasas (HFD) que contenía aceite de maíz al 20% y colesterol al 1,25% para inducir elementos clínicos e histológicos característicos de NAFLD y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Se llevó a cabo un estudio piloto de 7 días de duración usando dosificación intraperitoneal (IP) de bitartrato de cisteamina en un programa cada 8 horas (Q8H) a dos niveles de dosis: 75 o 250
45 mg/kg/día. En un estudio más largo de 8 semanas de duración se suministró bitartrato de cisteamina en el agua para beber a 25, 75 o 250 mg/kg/día.

Como se analiza en más detalle posteriormente, los datos de ambos estudios mostraron que el tratamiento con cisteamina produjo una mejora de los niveles de transaminasa hepática (aspartato aminotransferasa, o AST) en comparación con el grupo de control no tratado con HFD. La aleación de AST se considera uno de los mejores marcadores de información hepática en NAFLD y NASH. En comparación con los animales de control de dieta de HFD, los niveles de AST se redujeron en 1,6 a 1,9 veces con el tratamiento de cisteamina, es *decir*, reducciones de un 37 a un 47%, respectivamente. Los datos también mostraron que el tratamiento con cisteamina se asoció con cambios beneficiosos en LDH, un marcador general de daño tisular, y cambios beneficiosos en marcadores de perfil
50
55 lipídico tales como colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL, en comparación con los grupos de control de HFD. Las mejoras observadas en estos modelos de conejo apoyan la conclusión de que el tratamiento con cisteamina de enfermedades de hígado graso no alcohólico (NAFLD), incluyendo NASH, puede conferir beneficios clínicos.

60 **Estudio piloto.** En el estudio piloto, se suministraron dos niveles de dosis diferentes de cisteamina por la vía intraperitoneal (IP) cada 8 horas (Q8H) durante 7 días a conejos blancos de Nueva Zelanda alimentados con una dieta alta en grasas (HFD). Conejos macho entre 2,5 y 3,5 kg se dividieron en los siguientes grupos: 1) dieta convencional de control, 2 animales, 2) HFD de control, 2 animales, 3) dosis baja de bitartrato de cisteamina, 75 mg/kg/día, HFD, 4 animales y 4) dosis alta de bitartrato de cisteamina, 250 mg/kg/día, HFD, 4 animales. Los criterios de valoración incluyeron observaciones clínicas convencionales diarias, consumo de alimentos diario cuantitativo,
65 pesos corporales el Día del Estudio (SD) -1, 2, 5 y 8 (día de la necropsia), y muestras sanguíneas recogidas en SD-1

y SD8 para la evaluación de las químicas clínicas seleccionadas (alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), amilasa, lipasa, colesterol total, triglicéridos, lactato deshidrogenasa (LDH), colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL-colesterol), y colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL-colesterol)) y un panel de hematología completo. Los animales se sacrificaron en SD8.

5 No se encontraron diferencias farmacológicamente importantes con respecto a las observaciones clínicas, los pesos corporales o los valores de hematología obtenidos en la línea basal en SD-1 y SD8. Los valores observados para ALT, amilasa, lipasa, triglicéridos y colesterol HDL no fueron diferentes entre los grupos durante los 7 días del estudio. Sin embargo, se observaron aumentos en el colesterol total, colesterol LDL y valores de LDH en los
10 animales alimentados con la HFD.

Resulta importante que en comparación con el grupo de control de HFD, los grupos tratados con cisteamina mostraron mejoras en cuatro valores de química del suero: AST, colesterol total, colesterol LDL y LDH.

15 AST ha aparecido como el mejor marcador de inflamación hepática en NASH y se considera que es un marcador superior a ALT. En comparación con el grupo de control de HFD, se observó una reducción en los valores medios de AST en SD8 en el grupo de cisteamina de dosis alta (250 mg/kg/día), como se muestra en la Figura 1. El valor de AST medio para el grupo de HFD de control fue de 19,0 U/l, mientras que los conejos que recibieron 250 mg/kg/día de cisteamina mostraron una reducción de 1,9 veces en este valor a 10,0 U/l o solamente un 47% del valor de HFD
20 de control. Debido a que solamente había dos animales en el grupo de HFD de control, no fue posible realizar comparaciones estadísticas. Sin embargo, la comparación de los resultados de AST del grupo de 75 mg/kg/día en SD8 frente a los de los animales de cisteamina a 250 mg/kg/día indicó que el grupo de cisteamina de dosis alta era estadísticamente diferente del grupo de dosis baja por el ensayo de U de Mann-Whitney, $p = 0,03$. Estos datos mostraron que el tratamiento con cisteamina a 250 mg/kg/día en este régimen tuvo un impacto positivo en los
25 valores de AST.

Los valores de colesterol totales en suero medios en la línea basal (SD-1) variaron de 42,5 a 55,25 mg/dl en todos los grupos, lo que está dentro del intervalo histórico del laboratorio para conejos normales de 20-78 mg/dl. En SD8, los conejos que recibieron cisteamina a 75 o 250 mg/kg/día se descubrió que tenían menor aumento de colesterol
30 total medio en comparación con el grupo de HFD de control, como se muestra en la Figura 2. Los conejos de control en el Grupo 2 con la HFD tuvieron un valor de colesterol total medio de 842 mg/dl en SD8, aproximadamente un aumento de 20 veces sus valores de la línea basal. Los conejos en el Grupo 3, que recibieron 75 mg/kg/día de cisteamina tuvieron un valor medio de 652 mg/dl, aproximadamente solamente un aumento de 12 veces sobre su valor de línea basal, o un 23% menos del aumento que los controles de HFD. Los conejos en el Grupo 4, que
35 recibieron 250 mg/kg/día de cisteamina, tuvieron un valor medio de 347 mg/dl en SD8, un aumento de solamente aproximadamente 7,5 veces sobre su valor en la línea basal, o un 59% menos del aumento que los valores de control de HFD. Estos datos mostraron que el tratamiento con cisteamina daba como resultado una reducción dependiente de la dosis clara en el aumento de colesterol total en suero debido a la dieta HFD.

40 Los valores de colesterol LDL también parecían estar afectados por la dosificación de cisteamina. Como se ve con el marcador de colesterol total, el aumento de colesterol LDL observado en el grupo de HFD de control se redujo notablemente en los conejos tratados con cisteamina a 75 o 250 mg/kg/día, como se muestra en la Figura 3. El valor de colesterol LDL medio en todos los grupos en la línea basal varió de 9,5 a 18 mg/dl dentro del intervalo histórico de laboratorio de 4 a 19 mg/dl. En SD8, los conejos de HFD de control tuvieron un valor medio de 272,5 mg/dl, un
45 aumento de aproximadamente 29 veces sobre la línea basal. Los conejos en el Grupo 3 tratados con 75 mg/kg/día de cisteamina tuvieron un valor medio de 210 mg/dl en SD8, un aumento de solamente aproximadamente 12 veces en comparación con sus valores de línea basal respectivos, o un 23% menos de aumento que los controles de HFD. Los conejos en el Grupo 4 tratados con 250 mg/kg/día tuvieron un valor de colesterol LDL medio de 150,5 mg/dl, un aumento de solamente aproximadamente 14 veces en comparación con sus valores de línea basal, o un 45% menos de aumento que los controles de HFD. Estos datos mostraron que el tratamiento con cisteamina daba como
50 resultado reducciones notables en los aumentos de colesterol LDL debido a la dieta de HFD.

Los valores de LDH mostraron una tendencia similar: los conejos que recibieron cisteamina a 75 o 250 mg/kg/día tuvieron menor aumento de LDH que los conejos de HFD de control, como se muestra en la Figura 4. Los conejos
55 de HFD de control en el Grupo 2 tuvieron un valor de LDH medio de 190 U/l en SD8, un aumento de 1,7 veces sobre sus valores de línea basal. Los conejos en el Grupo 3 (75 mg/kg/día) tuvieron valores medios de 128 U/l en SD8, que fue una reducción de 1,2 veces en comparación con sus valores de línea basal, o un 33% de los valores de HFD de control en SD8. Los conejos en el Grupo 4 (250 mg/kg/día) tuvieron valores medios de 77,5 U/l en SD8, lo que fue una reducción de 3,1 veces en comparación con sus valores de línea basal, o un 59% de los valores de HFD de control en SD8. Estos datos mostraron que el tratamiento con cisteamina dio como resultado una reducción dependiente de la dosis de estos valores de LDH en comparación con los conejos de control alimentados con la
60 HFD.

Los datos muestran que el tratamiento de conejos alimentados con HFD con bitartrato de cisteamina a 75 o 250
65 mg/kg/día IP en un programa Q8H dio como resultado una mejora de los niveles de transaminasa hepática (AST), un marcador importante de la inflamación y daño hepático en NAFLD. El tratamiento con cisteamina también se asoció

con cambios beneficiosos en los marcadores bioquímicos del suero de colesterol total, colesterol LDL y LDH. Tomados juntos, los datos apoyan las conclusiones de que el tratamiento con cisteamina puede conferir beneficios clínicos en pacientes humanos con NAFLD tal como NASH.

5 **Estudio de 8 semanas.** El fin de este estudio fue evaluar los efectos del tratamiento con cisteamina en un modelo animal de NAFLD y NASH en el que se alimentaron conejos blancos macho de Nueva Zelanda con una dieta alta en grasas (HFD) que contenía aceite de maíz al 20% y colesterol al 1,25% para producir elementos clínicos e histológicos característicos de NAFLD y NASH.

10 El diseño del estudio incluyó cinco grupos de ocho conejos. Dos grupos de control no recibieron cisteamina en su agua para beber: un grupo de control que se alimentó con pienso convencional de conejo y otro grupo de control que se alimentó con la HFD. En tres grupos de conejos alimentados con la HFD, se introdujo bitartrato de cisteamina en el agua para beber a concentraciones calculadas para suministrar 25, 75 o 250 mg/kg/día. Se preparó agua para beber nueva diariamente basándose en la información de estabilidad y temperatura ambiente con respecto al bitartrato de cisteamina a través de este intervalo de concentraciones.

15 Las observaciones durante el estudio incluyeron pesos corporales dos veces por semana, consumo de alimento y agua diario, y observaciones clínicas diarias. Se recogieron muestras de sangre antes del comienzo del estudio y en las semanas 2, 4, 6 y 8 para un panel completo de parámetros hematológicos y un panel seleccionado de químicas de suero, incluyendo ALT, AST, amilasa, lipasa, colesterol total, triglicéridos, LDH, colesterol HDL y colesterol LDL.

20 En todos los grupos que recibieron la HFD, comenzaron a observarse observaciones clínicas tales como pelajes ásperos y comportamiento tranquilo aproximadamente a la mitad de la semana 8, mientras que comenzaron a aparecer señales de ictericia más temprano, a la mitad de la semana 6. Algunos animales presentaron orina de color oscuro o roja en estos mismos marcos temporales, lo que sugiere posibles bloqueos de bilis (colestasis). A lo largo del estudio, los animales con la HFD mostraron mucho más frecuentemente heces blandas en comparación con los animales con la dieta convencional. Los animales con la HFD también mostraron características histológicas que sugieren NAFLD. Tres animales en el Grupo 4, el grupo de cisteamina de dosis media, murieron en el estudio o se sacrificaron moribundos en SD 51, 55 y 56. Un animal en el Grupo 5, el grupo de dosis alta, fue se sacrificó moribundo en SD 55. Estas muertes en el estudio parecían estar asociadas con NAFLD avanzada.

25 Los datos de peso corporal mostraron que los animales con una dieta convencional y la HFD aumentaron de peso a aproximadamente a la misma velocidad durante las primeras 6 semanas del estudio. Sin embargo, comenzando en la semana 7, los animales con la HFD comenzaron a perder peso en comparación con la dieta convencional. Los pesos corporales de los animales tratados con cisteamina parecieron ser paralelos a los de los animales con HFD de control. Los datos de consumo de alimentos mostraron que los animales a los que se alimentó con la HFD consumieron menos alimentos que los de la dieta convencional después de la primera semana del estudio, lo que sería esperable debido al mayor contenido calórico de la HFD. El consumo de alimentos de los grupos tratados y el grupo de control de HFD fue similar. Aproximadamente a la semana 6, los animales con la HFD estaban consumiendo solamente aproximadamente de un 15 a un 30% de la cantidad de alimento consumido por los animales con la dieta convencional basándose en el área bajo la curva (AUC).

30 Los datos de consumo de agua siguieron un patrón similar. Todos los animales con la HFD consumieron menos agua que los de la dieta convencional, supuestamente debido a un mayor contenido de humedad en la HFD. Basándose en las AUC, el grupo de HFD de control consumió aproximadamente un 65% del agua consumida por los animales con la dieta convencional. Los grupos que bebieron agua que contenía cisteamina consumieron aproximadamente dos tercios del agua consumida por el grupo de control de HFD. Estos datos sugerirían que el agua que contiene cisteamina puede haber sido algo menos apetitosa que el agua de control para estos conejos.

35 Los datos hematológicos no revelaron cambios farmacológicamente importantes a lo largo del estudio. Hubo una tendencia a aumento ligero de recuentos de glóbulos blancos (WBC) en los conejos de control alimentados con la HFD en comparación con los controles de dieta convencional, principalmente debido a los linfocitos. Los grupos tratados con cisteamina fueron similares al grupo de control de HFD.

40 Los datos de química de suero reflejaron diferencias en los animales de control a los que se alimentó con la HFD en comparación con los animales de control de dieta convencional. Al final del estudio (semana 8), los animales de control de HFD en el Grupo 2 tuvieron aumentos de AST (2,6 veces), lipasa (6,6 veces), colesterol (64 veces), triglicéridos (3,8 veces), LDH (3 veces), colesterol HDL (2,3 veces) y colesterol LDL (55 veces) en comparación con los valores de control de la dieta convencional (Grupo 1). Los valores de amilasa y ALT permanecieron sin cambios.

45 Se considera que AST es un mejor marcador de inflamación hepática que ALT. A las 8 semanas, los animales de control alimentados con la HFD tuvieron un valor de AST medio de 117,1 U/l, un aumento de 2,6 veces en comparación con los animales de control alimentados con una dieta convencional, como se muestra en la Figura 5. Sin embargo, los valores de AST medios en los grupos de tratamiento de cisteamina tanto de dosis baja (25 mg/kg/días) como de dosis alta (250 mg/kg/día) se redujeron en comparación con los animales de HFD de control. Los animales en el Grupo 3 (25 mg/kg/día) tuvieron un valor de AST medio de solamente 62,5 U/l, una reducción de

1,9 veces en comparación con el grupo de control de HFD, una reducción de un 47%. De forma similar, los animales en el Grupo 5 (250 mg/kg/día) tuvieron un valor de AST medio de solamente 75,7 U/l, una reducción de 1,6 veces en relación con los controles de HFD, una reducción de un 35%. Dadas las dificultades para evaluar el suministro farmacológico proporcionado en cisteamina en el agua para beber, es notable que estas reducciones de los valores de AST se asociaran con dos de los tres grupos de tratamiento con cisteamina. También se encontraron reducciones similares de AST en el estudio piloto.

Como se ha observado en el estudio piloto, también se observaron reducciones de LDH en este estudio en animales tratados con cisteamina. Como se muestra en la Figura 6, a la semana 8, el valor de LDH medio fue de 375 U/l en los animales de control de HFD en el Grupo 2. La exposición a cisteamina dio como resultado una reducción de los valores de LDH a los tres niveles de dosis en los animales tratados en comparación con los controles de HFD del Grupo 2. En el Grupo 5, el grupo de dosis alta (250 mg/kg/día), el valor de LDH medio a la semana 8 fue de 140 U/l, casi idéntico al valor de LDH medio de grupo de control de dieta convencional del Grupo 1 de 125,6 U/l. Esta diferencia entre el valor de LDH de control de HFD y el valor de cisteamina de dosis alta (250 mg/kg/día) fue estadísticamente significativo por el ensayo de U de Mann-Whitney, $p = 0,03$. Estos datos mostraron que el tratamiento con cisteamina redujo notablemente el aumento de LDH provocado por la HFD.

Se reconoce bien que los niveles de colesterol HDL son indicadores positivos de perfiles lipídicos sanos. Se sabe que los conejos son un modelo particularmente bueno para perfiles lipídicos humanos debido a que tienen relaciones de línea basal similares a las halladas en ensayos humanos, y se consideran un buen modelo de enfermedad cardiovascular humana. Por lo tanto, fue notable que en este estudio, los animales tratados con la cisteamina de dosis alta (250 mg/kg/día) mostraron un aumento beneficioso de colesterol HDL en comparación con tanto con el grupo de control de dieta convencional como con el grupo de control de HFD, como se muestra en la Figura 7. A la semana 8, el valor de colesterol HDL medio en el grupo de cisteamina de 250 mg/kg/día fue de 58,3 mg/dl, un aumento de 1,6 veces sobre el valor medio de control de HFD de 36,9 mg/dl y un aumento de 3,7 veces sobre el valor de dieta convencional de control de 15,7 mg/dl.

Tomados juntos, los datos recogidos en este estudio de 8 semanas mostraron que los conejos alimentados con la HFD desarrollaron características químicas y serológicas asociadas con la enfermedad hepática coherente con NAFLD y NASH. La dosificación de cisteamina en los frascos de agua probablemente dio como resultado una administración variable del fármaco a los animales tratados. No obstante, se descubrió que dos de los mismos marcadores químicos de suero que mejoraron en el estudio piloto también mejoraron en este estudio de 8 semanas en presencia de cisteamina: AST y LDH. Estos se consideraron hallazgos importantes dado que se considera que AST es el mejor marcador de inflamación en NASH humana y que las reducciones de LDH probablemente también reflejen menos inflamación y probablemente protección de citotoxicidad en estos animales.

Otro hallazgo notable en este estudio a mayor plazo fue que el tratamiento con cisteamina se asoció con un aumento beneficioso en los niveles de colesterol HDL en suero.

REIVINDICACIONES

1. Cisteamina incluyendo sales para su uso en el tratamiento de un paciente que padece esteatohepatitis no alcohólica (NASH).
5
2. Cisteamina para uso de acuerdo con la reivindicación 1 que es cisteamina o una sal de cisteamina.
3. Cisteamina para uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, donde la cisteamina se administra a una dosis diaria total de
10
- i) 0,5-2,0 g/m², o
ii) 0,5-1,0 g/m².
4. Cisteamina para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la cisteamina se administra a una frecuencia de:
15
- i) cuatro o menos veces al día; o
ii) tres veces al día; o
iii) dos veces al día; o
20 iv) una vez al día.
5. Cisteamina para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en una forma de dosificación de liberación retardada o una forma de dosificación de liberación controlada.
- 25 6. Cisteamina para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que da como resultado una cualquiera de las siguientes:
- i) mejora de la fibrosis hepática en comparación con los niveles antes de la administración de la cisteamina;
30 ii) una reducción del contenido de grasa del hígado; o
iii) una reducción de la incidencia de o de la progresión de cirrosis, o
iv) una reducción de la incidencia de carcinoma hepatocelular, o
v) una reducción de los niveles de aminotransferasa hepática en comparación con los niveles antes de la administración de la cisteamina o
35 vi) una reducción de los niveles de ferritina en suero en comparación con los niveles antes del tratamiento con la cisteamina.
7. Cisteamina para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que da como resultado una respuesta exitosa a la terapia que es una reducción en el nivel de aminotransferasa hepática.
- 40 8. Cisteamina para uso de acuerdo con la reivindicación 6 o 7 donde la aminotransferasa hepática se selecciona del grupo que consiste en aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa.
9. Cisteamina para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el paciente es un niño o adolescente.
45
10. Uso de una cisteamina o una sal de cisteamina para la preparación de un medicamento para el tratamiento de esteatohepatitis no alcohólica (NASH).
- 50 11. Uso de la reivindicación 10, donde el medicamento es una forma de dosificación de liberación retardada.
12. Uso de la reivindicación 10 u 11, donde la cisteamina o sal de cisteamina se administra a una frecuencia de dos veces al día.
- 55 13. Cisteamina para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la cisteamina se administra a una frecuencia de dos veces al día.

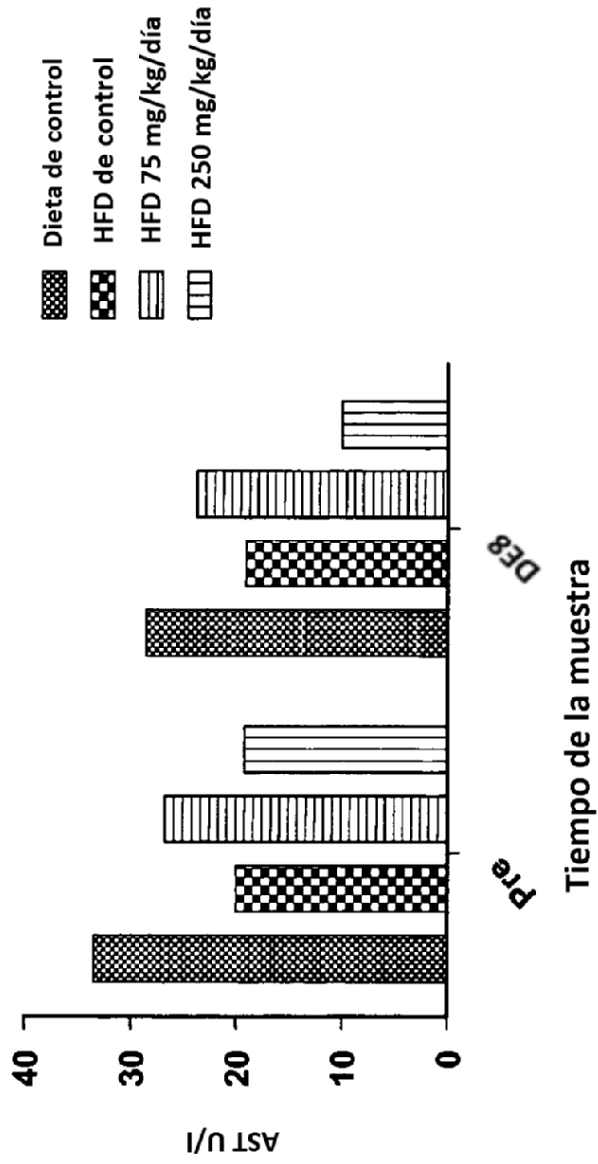


FIG. 1

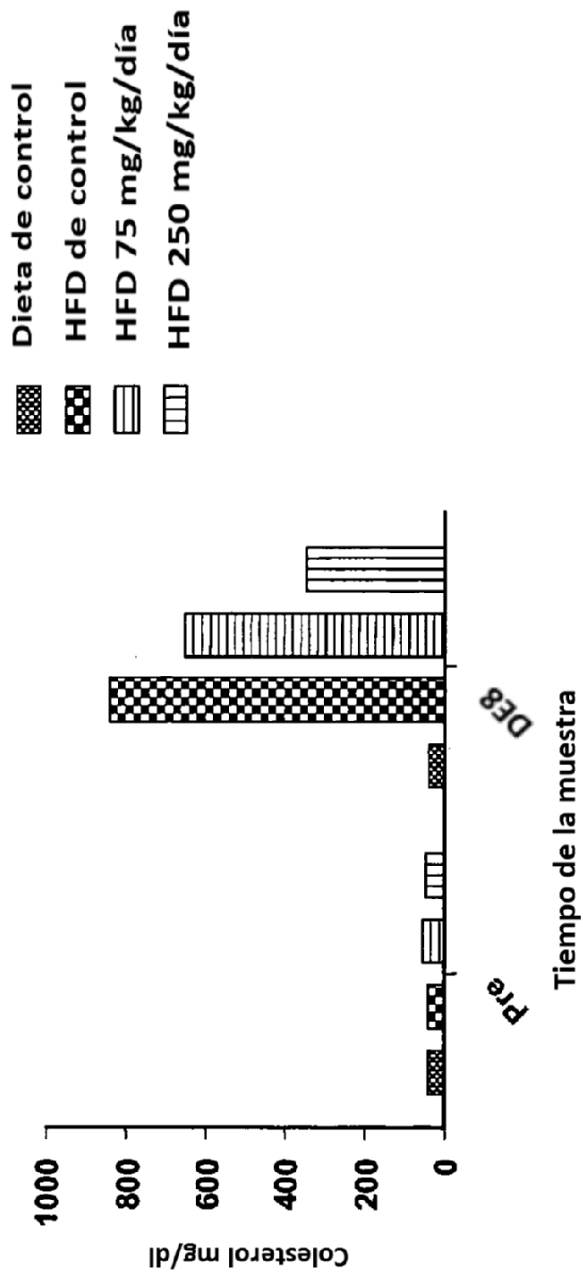


FIG. 2

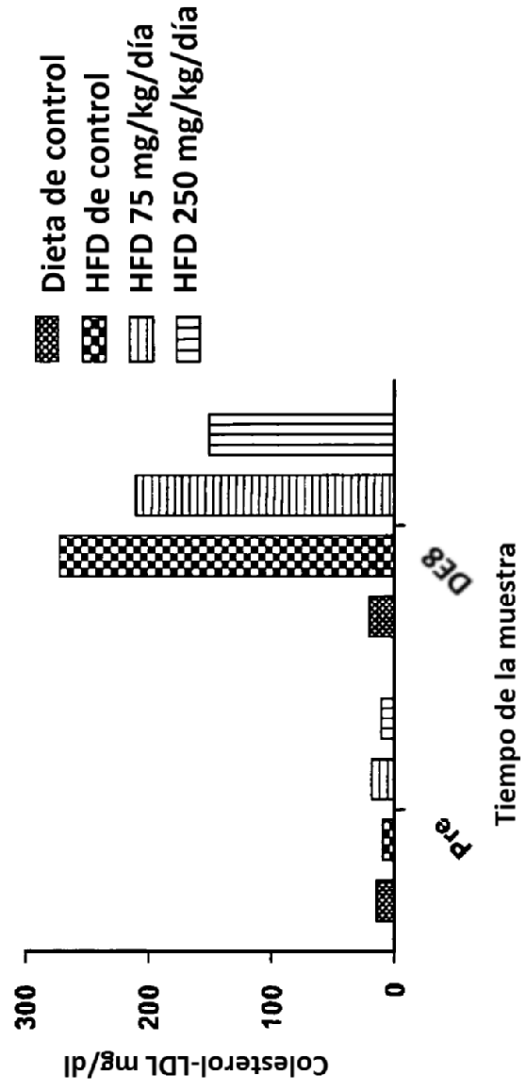


FIG. 3

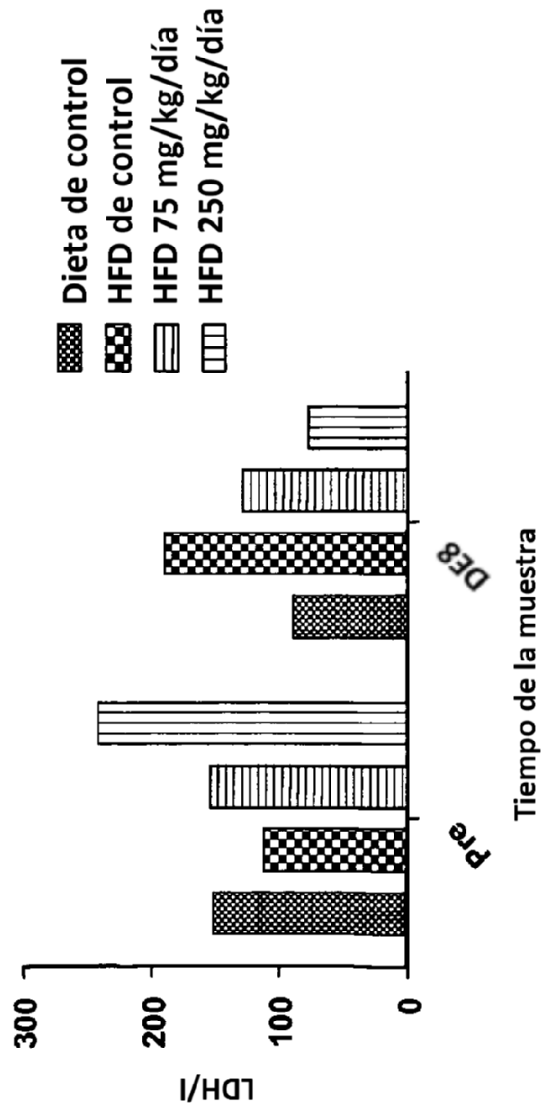


FIG. 4

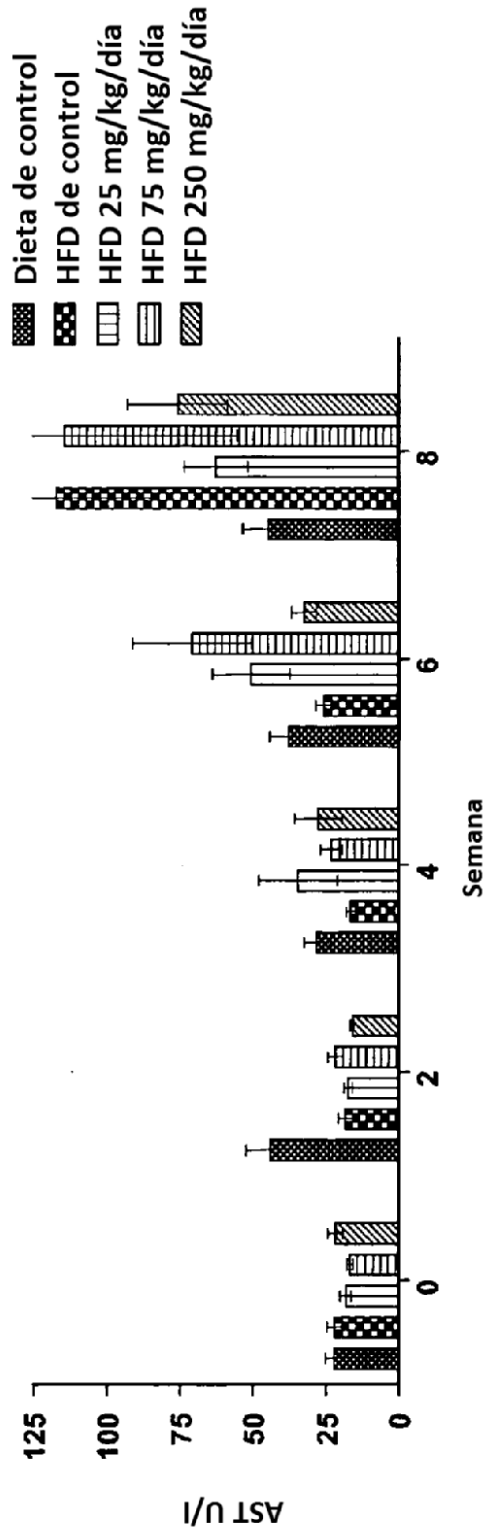


FIG. 5

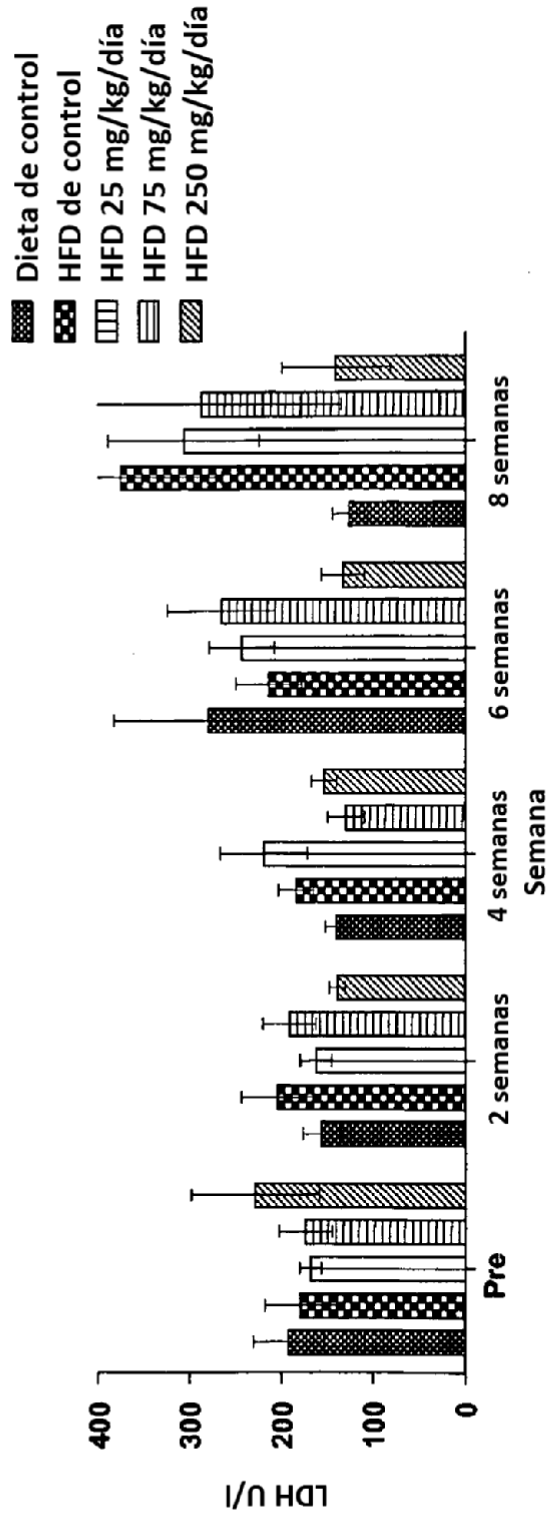


FIG. 6

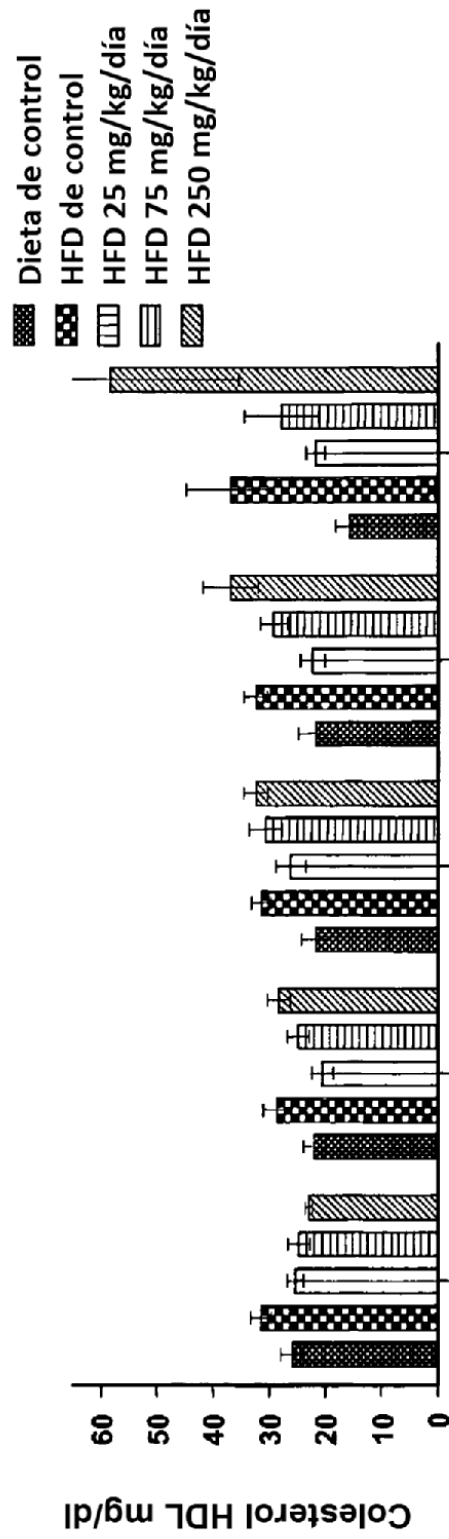


FIG. 7