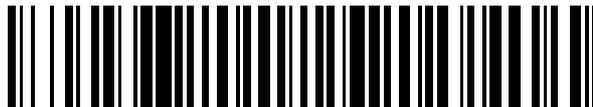


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 012**

51 Int. Cl.:

A61K 31/20 (2006.01)

A61K 8/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2011 E 11731209 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.10.2014 EP 2588101**

54 Título: **Derivados de N-acil aminoácidos para el tratamiento de trastornos de la piel como la celulitis**

30 Prioridad:

02.07.2010 US 361179 P

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

03.02.2015

73 Titular/es:

**HELIX BIOMEDIX, INC. (100.0%)
22121 17th Avenue SE, No 112
Bothell, WA 98021, US**

72 Inventor/es:

**FALLA, TIMOTHY J. y
ZHANG, LIJUAN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 528 012 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

Derivados de N-acil aminoácidos para el tratamiento de trastornos de la piel como la celulitis

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la solicitud provisional de los Estados Unidos Nº 61/361.179, presentada el 2 de julio de 2010.

Campo de la invención

10 La invención se refiere a composiciones que comprenden moléculas pequeñas que tienen actividad biológica y terapéutica. En particular, la invención se refiere a composiciones que comprenden moléculas pequeñas que tienen actividad lipolítica y anti-adipogénica y su uso en el tratamiento terapéutico de la piel de un mamífero para reducir la cantidad de grasa subcutánea o prevenir la acumulación de grasa subcutánea. Dos ejemplos de tales moléculas son el ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y la N-isopentil octanamida.

15

Antecedentes de la invención

La celulitis puede ser la consecuencia de la acumulación de tejido graso degradado en la piel. Uno o varios factores que contribuyen a este trastorno incluyen la mala circulación arterial o venosa, alteraciones hormonales y problemas con el drenaje linfático. Un trastorno subyacente a la producción de celulitis es la acumulación de grasa excesiva en los adipocitos de la piel. Al quedar muy cargados de grasas (lípidos en forma de triglicéridos), los adipocitos se hinchan y se vuelven hipertróficos, a veces en una gran proporción. La compresión de los vasos sanguíneos y linfáticos por las masas grasas resultantes de la hipertrofia induce un drenaje de líquido insuficiente y el estancamiento de las toxinas en la piel. El edema y degeneración del tejido conjuntivo que resulta de estos trastornos conducen al aspecto en forma de punteado irregular que caracteriza la celulitis.

20

Uno de los objetivos de la industria del cuidado de la piel es el desarrollo de moléculas pequeñas (con un PM inferior a 500) capaces de penetrar en la piel y que puedan estimular la descomposición de los depósitos de grasa en la celulitis y otras anomalías de la piel. Se ha demostrado que el ácido octanoico, un ácido graso libre que también se conoce como octanoato o ácido caprílico, está implicado en la modulación natural del metabolismo de los lípidos en los adipocitos del cuerpo (2000, Guo et al, Biochem J. 349: 463-471; 2002, Han et al, J. Nutr. 132:904-910; 2004, Lei et al, Obesity Res 12:599-610; 2006, Guo et al, Nutr Metab (Lond.) 3:30; Publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos Nº 2005/0019372) y, por lo tanto, es un fármaco candidato para el tratamiento de la celulitis. El ácido octanoico se encuentra de forma natural en la leche y algunos aceites vegetales (por ej., de coco y de palma) y es un suplemento dietético ampliamente utilizado para una amplia gama de propósitos, incluyendo la actividad anti-fúngica. Aparte de su actividad lipolítica, el ácido octanoico también es absorbido por los adipocitos y se utiliza junto con el glicerol y otro ácido graso para sintetizar triglicéridos (Figura 1).

30

35

El documento WO 90/14429 divulga un procedimiento para la preparación de aminoácidos acilados tales como N-octanoil leucina y su uso en composiciones de cuidado personal.

40

El documento EP 0500332 divulga compuestos de N-acilaminoácido tales como N-oleoil carnosina o N-oleoil histidina y su uso en composiciones absorbentes de la radiación ultra-violeta o en composiciones antibacterianas.

Otros compuestos, además del ácido octanoico, conocidos por modular el metabolismo de los lípidos en los adipocitos están adaptados principalmente de fármacos sistémicos que se han desarrollado para diversos trastornos cardíacos y respiratorios. Estos incluyen isoproterenol (un agonista beta-adrenérgico), aminofilina (un inhibidor de la fosfodiesterasa) y teofilina (un inhibidor de la fosfodiesterasa similar en estructura a la cafeína). Estas moléculas se inyectan como parte de un régimen de mesoterapia o se utilizan por vía tópica para efectuar la reducción de grasa en trastornos tales como la deposición de la celulitis. Para mejorar la disponibilidad de moléculas como éstas para aplicación a los productos para el cuidado de la piel, se requeriría producir agentes que (i) sean medicamentos de venta sin receta, (ii) sean de origen más natural, (iii) presenten buenas cualidades de penetración en la piel y (iv) aumenten la actividad lipolítica en los moléculas actualmente disponibles.

50

Sumario de la invención

55

Una realización de la presente invención puede referirse a una composición para uso en el tratamiento terapéutico de la piel de un mamífero para reducir la cantidad de grasa subcutánea o prevenir la acumulación de grasa subcutánea. La composición comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable. El compuesto a su vez es de la fórmula $R_1-C(O)-NH-R_2$ donde R_1 comprende una cadena de 5 a 35 átomos de carbono, la porción $R_1-C(O)$ de la fórmula es un grupo acilo graso y la porción $NH-R_2$ de la fórmula comprende (i) un aminoácido, en el que el grupo R_2 comprende el carbono alfa, el grupo carboxilo y el grupo lateral de dicho aminoácido, y en el que el grupo NH está unido al carbono alfa de dicho aminoácido o (ii) un análogo de dicho aminoácido, en el que dicho análogo difiere de dicho aminoácido por la ausencia del grupo carboxílico unido al carbono alfa del aminoácido, en el que el grupo R_2 comprende el carbono alfa y el grupo lateral de dicho aminoácido y en el que el grupo NH está unido al

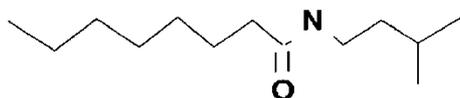
60

65

carbón alfa de dicho análogo.

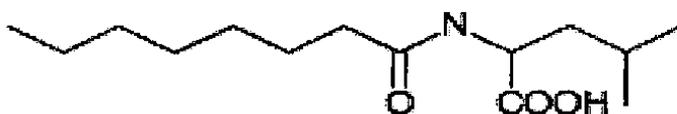
En ciertas realizaciones de la invención, el grupo lateral del aminoácido o del análogo de aminoácido puede ser hidrófobo. El aminoácido (el aminoácido completo o el análogo anterior) puede ser leucina, isoleucina, valina o alanina.

Ciertas realizaciones del método anterior emplean un compuesto que comprende o que consiste en la fórmula:



(N-isopentil-octanamida) .

Otras determinadas realizaciones del método anterior utilizan un compuesto que comprende o que consiste en la fórmula:



(ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico) .

En la realización del ácido 4-metil-2-(octanoilamino)pentanoico, es evidente que el grupo R_2 es un grupo leucina, mientras que el grupo R_2 en la realización de la N-isopentil-octanamida es una leucina que carece del grupo carboxilo. Las realizaciones incluyen además las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos en cuestión.

En ciertas realizaciones de la invención, la cadena del grupo R_1 de la fórmula $R_1-C(O)-NH-R_2$ puede comprender de 7 a 21 átomos de carbono. En estas y otras realizaciones, donde la cadena R_1 tiene 7 átomos de carbono de longitud, el grupo acilo graso $R_1-C(O)-$ sería un grupo octanoilo. Estas y otras realizaciones de la invención pueden comprender un grupo R_2 que comprende de 2 a 15 átomos de carbono; un grupo R_2 tal puede consistir opcionalmente en átomos de carbono e hidrógeno. Todavía en otras realizaciones de la invención, el R_2 puede comprender de 5 a 9 átomos de carbono y el grupo R_1 puede comprender de 5 a 13 átomos de carbono. El grupo acilo graso en una o más realizaciones de la invención puede ser saturado o insaturado.

La composición puede estar en la forma de un aerosol, emulsión, líquido, loción, crema, pasta, pomada, polvo o espuma. Además de comprender un compuesto que tiene la fórmula $R_1-C(O)-NH-R_2$, la composición puede comprender, además, carnitina, resveratrol, isoproterenol, aminofilina, teofilina, cafeína o cualquier otro agente que induce la lipólisis o agente que inhibe la lipogénesis.

La composición se puede administrar a la piel a través de una capa subcutánea que comprende una distribución de la grasa que es anormal con respecto al tejido subcutáneo normal. La composición se puede administrar a la piel a través de una capa subcutánea que es propensa a desarrollar una distribución de grasa que es anormal con respecto al tejido subcutáneo normal. La composición se puede administrar a la piel que comprende la celulitis o a la piel que es propensa a desarrollar celulitis.

La presente divulgación también abarca un método para aumentar la producción de glicerol por una célula que comprende poner en contacto dicha célula con un compuesto que comprende la fórmula $R_1-C(O)-NH-R_2$, donde R_1 comprende una cadena de 5 a 35 átomos de carbono, la porción $R_1-C(O)$ de la fórmula es un grupo acilo graso y R_2 comprende un grupo orgánico. La célula diana de este método puede ser un adipocito o un adipocito comprendido en el tejido adiposo subcutáneo. El compuesto puede hacer que la célula metabolice las moléculas de triglicéridos almacenadas en la célula dando glicerol y ácidos grasos.

La presente divulgación también abarca un método para reducir la adipogénesis que comprende poner en contacto una célula con un compuesto que comprende la fórmula $R_1-C(O)-NH-R_2$, donde R_1 comprende una cadena de 5 a 35 átomos de carbono, la porción $R_1-C(O)$ de la fórmula es un grupo acilo graso y R_2 comprende un grupo orgánico. La célula diana de este método puede ser un adipocito o pre-adipocito o un adipocito o pre-adipocito comprendido en el

tejido subcutáneo. El compuesto puede hacer que la célula (por ej., adipocito o pre-adipocito) reduzca la acumulación de lípidos. La reducción de la acumulación de lípidos puede ser una disminución de lípidos citoplásmicos.

5 Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 muestra los procesos metabólicos de la lipogénesis y la lipólisis. Los ácidos grasos representados son moléculas de ácido hexanoico.

La FIG. 2 muestra las fórmulas químicas del (A) ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y (B) N-isopentiloctanamida. Las fórmulas moleculares estructurales y básicas, así como el peso molecular (PM), se muestran además, para cada compuesto.

La FIG. 3 muestra ciertas vías de señalización en adipocitos que sufren (A) lipogénesis y (B) lipólisis. LDL, lipoproteínas de baja densidad; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad; TG, triglicéridos; FFA, ácidos grasos libres; HSL, lipasa sensible a hormonas; AQP7, acuaporina-7.

La FIG. 4 muestra la producción relativa de ácidos grasos libres en los adipocitos 3T3-L1 que habían estado expuestos durante la noche a 100 µg/ml de carnitina, resveratrol, isoproterenol, aminofilina, teofilina, caféina, ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico (HB2031) o N-isopentiloctanamida (HB2032). En la muestra control se usó sal tamponada con fosfato (PBS).

La FIG. 5 muestra la producción relativa de ácidos grasos libres en los adipocitos 3T3-L1 que habían estado expuestos durante la noche a 100 µg/ml de isoproterenol, ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico (HB2031) o N-isopentiloctanamida (HB2032). En la muestra control se utilizó PBS.

La FIG. 6 muestra la actividad anti-adipogénesis de la N-isopentiloctanamida (HB2032). A) preadipocitos 3T3-L1 cultivados en medio completo sin la adición de agentes inductores de adipogénesis. B) los preadipocitos 3T3-L1 fueron inducidos a diferenciarse totalmente en adipocitos después de nueve días de inducción con inductores de la adipogénesis. C) células tratadas con 100 µg/ml de HB2032 en presencia de inductores de la adipogénesis durante nueve días. D) células tratadas con 150 µg/ml de HB2032 en presencia de inductores de la adipogénesis durante nueve días. E) células tratadas con 200 µg/ml de HB2032 en presencia de inductores de la adipogénesis durante nueve días. Las células se tiñeron para determinar el contenido de lípidos con tinte aceite rojo O. Las imágenes se muestran bajo un microscopio de disección.

La FIG. 7 muestra los efectos de 100 µg/ml de ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico (HB2031) y N-isopentiloctanamida (HB2032) sobre la viabilidad de la piel utilizando el Modelo de piel EpiDerm™ (MatTek, MA) en combinación con un ensayo MTT modificado, después de períodos de incubación de 2, 5 y 18 horas. El tratamiento de glicerina se utilizó como control.

35 Descripción detallada de la invención

La composición de la presente invención comprende compuestos, amidas grasas, en particular, para modular los adipocitos, tales como mediante la estimulación de los procesos lipolíticos. Ejemplos de estos compuestos son el ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico (Figura 2A) y la N-isopentiloctanamida (Figura 2B), los cuales tienen cada uno un PM de menos de 300, e inducir la descomposición de los triglicéridos en los adipocitos en mayor medida que con las moléculas actualmente disponibles, tales como isoproterenol, aminofilina y teofilina. Estos compuestos divulgados en la presente memoria carecen de toxicidad para las células de la piel. Estas características, junto con las características de lipidación, que hace posible que penetren en la piel, hace que estos compuestos sean particularmente útiles para prevenir y tratar los efectos negativos de la deposición adiposa anormal en la piel (por ej., la celulitis y las estrías). Este efecto beneficioso de la composición de la presente invención sobre la piel está también asociado con un aumento de los niveles de glicerol en la piel, que mejora el estado de la piel.

Un compuesto de ejemplo para uso en la composición de la presente invención es el ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico. Este compuesto es referido alternativamente como ácido 4-metil-2-(capriloilamino) pentanoico, ácido 4-metil-2-(octanoilamino) valérico o el ácido 4-metil-2-(capriloilamino) valérico, por ejemplo. La nomenclatura para esta molécula se basa en la existencia de un grupo octanoilamino en el carbono de la posición 2 (la posición 1 es el carbono del grupo ácido carboxílico) del ácido pentanoico y un grupo metilo en el carbono de la posición 4 del ácido pentanoico. Los compuestos que comprenden o consisten en ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico se pueden utilizar en la composición de la presente invención.

Otro compuesto ejemplo para uso en la composición de la presente invención es N-isopentiloctanamida. Este compuesto es referido alternativamente como N-isoamiloctanamida, N-isopentilcaprilamida o N-isoamilcaprilamida, por ejemplo. Los compuestos que comprenden o consisten en N-isopentiloctanamida se pueden utilizar en la composición de la presente invención.

Ejemplos de compuestos que se pueden utilizar en la composición de la presente invención comprenden o consisten en la fórmula química:

65
$$R_1\text{-CO-NH-R}_2$$

Los compuestos 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y N-isopentiloctanamida tienen esta fórmula.

Se conoce bien en la técnica que el componente R_1 -CO de fórmula R_1 -CO-NH- R_2 se puede derivar de un ácido graso, por ejemplo. Un experto en la técnica reconocería que, dado que R_1 -CO- se puede derivar de un ácido graso (AG), R_1 puede comprender una cadena de hidrocarburo (por ej., alcano, alqueno, alquino, o variaciones de las cadenas de AG como se describe aquí) y-CO- puede derivar de un grupo de ácido carboxílico que se ha condensado con la porción -NH- R_2 . El componente R_1 -CO- en este caso comprendería o consistiría en un grupo acilo graso. R_1 puede ser un grupo alifático compuesto enteramente de carbono e hidrógeno, o puede comprender además otros átomos tales como oxígeno y nitrógeno, por ejemplo. Ejemplos de ácidos grasos saturados (es decir, donde R_1 es un alcano) que pueden ser utilizados para proporcionar el componente R_1 -CO- de los compuestos tienen la fórmula general $CH_3(CH_2)_nCOOH$ y se enumeran en la Tabla 1.

Tabla 1: Ácidos grasos saturados

Nombre sistemático	Nombre común	Designación breve
ácido butanoico	ácido butírico	4:0
ácido pentanoico	ácido valérico	5:0
ácido hexanoico	ácido caproico	6:0
ácido octanoico	ácido caprílico	8:0
ácido nonanoico	ácido pelargónico	9:0
ácido decanoico	ácido cáprico	10:0
ácido dodecanoico	ácido láurico	12:0
ácido tetradecanoico	ácido mirístico	14:0
ácido hexadecanoico	ácido palmítico	16:0
ácido heptadecanoico	ácido margárico (datúrico)	17:0
ácido octadecanoico	ácido esteárico	18:0
ácido eicosanoico	ácido araquídico	20:0
ácido docosanoico	ácido behénico	22:0
ácido tetracosanoico	ácido lignocérico	24:0
ácido hexacosanoico	ácido cerótico	26:0
ácido heptacosanoico	ácido carbocérico	27:0
ácido octacosanoico	ácido montánico	28:0
ácido triacontanoico	ácido melísico	30:0
ácido dotriacontanoico	ácido laceroico	32:0
ácido tritriacontanoico	ácido ceromelísico (psílico)	33:0
ácido tetratriacontanoico	ácido gédico	34:0
ácido pentatriacontanoico	ácido ceroplástico	35:0

La cadena de hidrocarburo de un grupo ácido graso o acilo graso (es decir, R_1 -CO-) (nótese que el átomo de carbono del grupo carboxílico se considera como un carbono en la cadena), es igual o superior a 4 átomos de carbono de longitud. Grupos ácidos grasos/acilo grasos tienen longitudes de cadena de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 átomos de carbono. Por lo tanto, se deduce que R_1 puede tener una longitud de cadena de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38 o 39 átomos de carbono. En ciertas realizaciones, la longitud de cadena del grupo acilo graso es de 6 a 36, 8 a 16, 8 a 18, 8 a 20, 8 a 22 o de 8 a 24 carbonos de longitud; por lo tanto, para estas realizaciones R_1 tiene una cadena de 5 a 35, 7 a 15, 7 a 17, 7 a 19, 7 a 21 o 7 a 23 carbonos, respectivamente. Otros grupos ácidos grasos/acilo graso tienen longitudes de cadena de un número par o impar de carbonos. Para preparar los compuestos de uso en esta invención se pueden usar grupos de ácidos grasos o grupos acilo grasos de cadena corta, de cadena media y de cadena larga. Los ácidos grasos de cadena media suelen tener de 8 (o 6) a 10 (o 12) átomos de carbono, mientras que los ácidos grasos de cadena larga tienen generalmente 14 (o 12) y más átomos de carbono. Los ácidos grasos esenciales y no esenciales se pueden usar también para uso en las composiciones de la invención, así como derivados de forma natural y ácidos grasos derivados sintéticamente.

Los expertos conocerían el correspondiente grupo acilo graso para cualquier ácido graso; por ejemplo, el grupo acilo graso para el ácido graso $CH_3(CH_2)_6COOH$ (ácido octanoico) es $CH_3(CH_2)_6CO-$ (grupo octanoílo) ($R_1=7$). Por lo tanto, la presente descripción relacionada con ácidos grasos se refiere igualmente a los correspondientes grupos acilo grasos. Ejemplos de grupos acilo grasos son butanoílo, pentanoílo, hexanoílo, heptanoílo, octanoílo, nonanoílo, decanoílo, dodecanoílo, tetradecanoílo, hexadecanoílo, heptadecanoílo, octadecanoílo, eicosanoílo, docosanoílo, tetracosanoílo, hexacosanoílo, heptacosanoílo, octacosanoílo y triacontanoílo.

Los ácidos grasos útiles incluyen ácidos grasos saturados (es decir, una cadena de alcano que no tiene dobles enlaces entre los carbonos de la cadena y que tiene el número máximo de átomos de hidrógeno) y ácidos grasos insaturados (es decir, una cadena de alqueno o alquino que tiene al menos un enlace doble y/o triple entre los carbonos de la cadena, respectivamente). Ejemplos de ácidos grasos insaturados son los monoinsaturados (MUFA) si sólo un doble enlace está presente en la cadena, los poliénoicos (o ácidos grasos poliinsaturados, PUFA) si la

cadena tiene dos o más enlaces dobles (por ej., interrumpido con metileno, interrumpido con polimetileno, dienos conjugados, ácidos alénicos, ácidos cumulénicos) y los acetilénicos si la cadena contiene un triple enlace. Otros ejemplos de ácidos grasos insaturados son ácidos grasos omega-3 (*n*-3), omega-6 (*n*-6) y omega-9 (*n*-9). Ejemplos de ácidos grasos insaturados (es decir, R₁ es un alqueno o alquino) que se pueden utilizar para proporcionar el componente R₁-CO- se enumeran en la Tabla 2.

Tabla 2. Ácidos grasos insaturados

Nombre sistemático	Nombre común	Designación breve
ácido 9- <i>cis</i> -tetradecenoico	Ácido miristoleico	14:1 (n-5)
ácido 9- <i>cis</i> -hexadecenoico	Ácido palmitoleico	16:1 (n-7)
ácido 6- <i>cis</i> -6-hexadecenoico	Ácido sapiénico	16:1 (n-10)
ácido <i>todo-cis</i> -7,10,13 hexadecatrienoico		16:3 (n-3)
ácido 9- <i>cis</i> -octadecenoico	Ácido oleico	18:1 (n-9)
ácido <i>todo-cis</i> -9,12-octadecadienoico	Ácido linoleico	18:2 (n-6)
ácido <i>todo-cis</i> 9,11-octadecadienoico	Ácido linoleico conjugado	18:2 (n-6)
ácido <i>todo-cis</i> -9,12,15- octadecatrienoico	Ácido α-linolénico (ALA)	18:3 (n-3)
ácido <i>todo-cis</i> -6,9,12- octadecatrienoico	Ácido γ-linolénico (GLA)	18:3 (n-6)
ácido <i>todo-cis</i> -6,9,12,15 octadecatetraenoico	Ácido estearidónico (SDA)	18:4 (n-3)
ácido <i>todo-cis</i> -11,14,17-eicosatrienoico	Ácido eicosatrienoico (ETE)	20:3 (n-3)
ácido <i>todo-cis</i> -8,11,14- eicosatetraenoico	Ácido dihomo-γ-linolénico- (DGLA)	20:3 (n-6)
ácido <i>todo-cis</i> -5,8,11,14- eicosatetraenoico	Ácido araquidónico	20:4 (n-6)
ácido <i>todo-cis</i> -8,11,14,17- eicosatetraenoico	Ácido eicosatetraenoico (ETA)	20:4 (n-3)
ácido <i>todo-cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	Ácido eicosapentaenoico (EPA)	20:5 (n-3)
ácido (Z)-Docos-13-enoico	Ácido erúxico	22:1 (n-9)
ácido <i>todo-cis</i> -7,10,13,16,19-docosapentaenoico	Ácido docosapentaenoico (DPA),	22:5 (n-3)
ácido <i>todo-cis</i> -4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	Ácido docosahexaenoico (DHA)	22:6 (n-3)
ácido <i>todo-cis</i> -9,12,15,18, 21-docosahexaenoico	Ácido tetracosapentaenoico	24:5 (n-3)
ácido <i>todo-cis</i> -6,9,12,15,18, 21-tetracosenoico	Ácido tetracosahexaenoico (ácido nisínico)	24:6 (n-3)

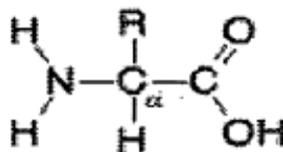
Otros tipos menos comunes de ácidos grasos se pueden utilizar en la preparación de compuestos para uso en las composiciones de la invención, incluyen los que tienen otros tipos de grupos en su cadena de hidrocarburo además de metilo. Ejemplos de grupos no metilo que pueden estar en la cadena son grupos éter, carboxílico, cetona, éster y aldehído. Otros ejemplos de ácidos grasos menos comunes son los que tienen cadenas que tienen grupos de ramificación aparte del hidrógeno. Ejemplos de ácidos grasos alternativos son hidroxiácidos grasos, ácidos dicarboxílicos, carbonatos de ácidos grasos, ácidos grasos divinil éter, ácidos grasos que contienen azufre, amidas de ácidos grasos, ácidos grasos metoxi y acetoxi, cetoácidos grasos, ácidos grasos aldehídicos, ácidos grasos halogenados (por ej., F, Cl, Br), ácidos grasos nitrados, ácidos grasos de cadena ramificada, ácidos grasos de cadena monorramificada o multirramificada, ácidos grasos metoxi ramificados, hidroxí ácidos grasos ramificados (por ej., ácido micólico), ácidos grasos que contienen anillo, ácidos ciclopropano, ciclobutano (por ej., ladderanes), ácidos ciclopentilo, ácidos furanoide, ácidos ciclohexilo y hexenilo, ácidos fenil alcanico y benzoico alcanico, ácidos epoxi, peróxidos grasos cíclicos y ácido lipoico.

Aunque los compuestos para uso en las composiciones de la presente invención se pueden preparar usando los ácidos grasos descritos en la presente memoria, otros formatos para la preparación de los compuestos sería fácilmente evidente para un experto en la materia. Por lo tanto, cuando la presente divulgación describe el componente R₁-CO- de fórmula R₁-CO-NH-R₂ en términos de ácidos grasos y la producción de los mismos, tal divulgación no limita que los compuestos tengan que ser sintetizados a partir de ácidos grasos per se. Cuando se apliquen otros métodos de síntesis para producir compuestos para su uso en las composiciones de la invención, es todavía útil y comprensible caracterizar el componente R₁-CO- con respecto al carácter del grupo ácido graso o acilo graso.

Se conoce bien en la técnica que el componente R₁-CO-NH- de fórmula R₁-CO-NH-R₂ puede derivarse o describirse como una amida grasa (también conocido como amida de ácido graso o alquilamida), por ejemplo. Las amidas grasas se pueden producir por condensación de un ácido graso, tal como se describe en la presente memoria, con una amina (por ej., amoníaco, amina primaria, amina secundaria). Ejemplos de amidas grasas que se pueden utilizar para proporcionar el componente R₁-CO-NH- de la fórmula R₁-CO-NH-R₂ son por lo tanto fácilmente evidentes a la vista de los ejemplos descritos de ácidos grasos. Una lista no limitante de amidas grasas incluye pentanamida (valeramida), hexanamida (caproamida), octanamida (caprilamida), nonanamida (pelargonamida), decanamida (capramida), dodecanamida (lauramida), tetradecanamida (miristamida), palmitamida, araquidamida, behenamida, estearamida, oleamida, erucamida, y recinoleamida.

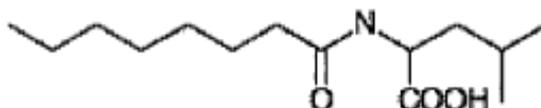
Aminoácidos y derivados de los mismos se pueden utilizar en la preparación de la porción -NH-R₂ de la fórmula R₁-CO-NH-R₂ de los compuestos para su uso en las composiciones de la invención. Ejemplos de aminoácidos que pueden ser utilizados son, tanto en las formas L como D, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína,

5 glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. Otros ejemplos de aminoácidos son norleucina, norvalina, alfa-aminooctanoato, beta-metilfenilalanina, alfa-aminofenilacetato, ornitina, taurina, carnitina, ácido γ -aminobutírico (GABA), L- DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina), hidroxiprolina, selenometionina y selenocisteína. Los aminoácidos tienen un carbono central (el carbono alfa, C_{α}) que está unido a un grupo amino, un grupo ácido carboxílico y un grupo lateral (R). La estructura general de un aminoácido libre es la siguiente:



10 Los expertos reconocerían que el grupo amino unido al carbono alfa de un aminoácido podría ser utilizado para proporcionar la porción $-NH$ de la fórmula $R_1-CO-NH-R_2$, en cuyo caso R_2 comprendería o consistiría en el carbono alfa, el grupo lateral y el grupo carboxílico del aminoácido. Un ejemplo de un compuesto que tiene la fórmula $R_1-CO-NH-R_2$ con la porción $-NH-R_2$ de la misma que se deriva de un aminoácido puede ser el ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico:

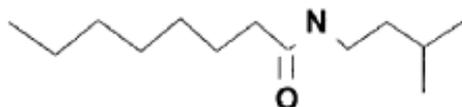
15



20 En este ejemplo, la porción $-NH-R_2$ puede derivarse de leucina. Alternativamente, los expertos en la materia también reconocen que el grupo amina tal como existe en ciertos grupos laterales de aminoácidos (por ej., arginina, asparagina, glutamina, lisina, histidina, prolina, triptófano) puede ser utilizado para proporcionar la porción $-NH$ de la fórmula $R_1-CO-NH-R_2$, en cuyo caso R_2 comprendería o consistiría en el carbono alfa, el grupo carboxílico, el grupo amino y el resto del grupo lateral del aminoácido.

25 Los derivados de aminoácidos incluyen derivados de sales y derivados que carecen del grupo amina o el grupo carboxilo unido al carbono alfa. Otros ejemplos son los aminoácidos modificados en su grupo lateral, como por esterificación o amidación. Un ejemplo de un compuesto que tiene la fórmula $R_1-CO-NH-R_2$ con la porción $-NH-R_2$ de la misma que se deriva de un análogo de aminoácido puede ser N-isopentiloctanamida:

30



35 En este ejemplo, la porción $-NH-R_2$ se puede derivar de una leucina que carece del grupo carboxilo ($COOH$) que está de otra manera unido al carbono alfa.

El grupo lateral de un aminoácido o derivado de aminoácido, en el cual la porción $-NH-R_2$ de la fórmula $R_1-CO-NH-R_2$ puede derivarse o de otra manera asemejarse, puede estar cargado positivamente, cargado negativamente, ser polar, polar no cargado, no polar, hidrófobo, ácido, básico, alifático o neutro.

40 Se sabe bien en la técnica cómo se pueden producir compuestos para su uso en las composiciones de la presente invención. Por ejemplo, los métodos de síntesis pueden incluir la condensación o unión de un ácido graso (por ej., los descritos en el presente documento) con un aminoácido o un compuesto relacionado con un aminoácido. La Publicación de Solicitud de Estados Unidos N° 2008/0200704 divulga un ejemplo de este tipo de síntesis orgánica. Además, los expertos en la materia reconocerán cómo se podría aplicar la metodología descrita a continuación (Ejemplos) con respecto a la síntesis del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y la N-isopentiloctanamida para la preparación de otros compuestos para su uso en las composiciones de la invención.

45 Debe ser evidente que, cuando la presente divulgación se refiere a segmentos de la fórmula que se derivan de un aminoácido o cualquier otro resto o grupo, tal divulgación se refiere tanto a los productos que se producían de hecho usando dicho aminoácido, como a los productos producidos a partir de otros componentes. En estos últimos ejemplos, puede ser útil hacer referencia al producto final con respecto a los grupos en el mismo en función de su similitud o coincidencia con ciertos grupos químicos tales como aminoácidos.

55 La porción $-NH-R_2$ de la fórmula $R_1-CO-NH-R_2$ puede considerarse como un extremo, grupo terminal o grupo de bloqueo del grupo acilo graso R_1-CO- . En este sentido, la porción $-NH-R_2$ impide que el grupo acilo graso forme un éster con un grupo alcohol ($R-OH$). Dado que el grupo acilo es un enlace amida, su carbono carboxilo no es

susceptible o es menos susceptible al ataque nucleófilo por un electrófilo tal como un alcohol.

Ejemplos de compuestos que se pueden utilizar en las composiciones de la presente invención son parcial o totalmente lipófilos (hidrófobos) y tienen un peso molecular de aproximadamente 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 o 600. En general, la lipofilicidad de los compuestos se puede proporcionar en gran parte por el grupo R₁. Aquellos compuestos que son parcialmente lipófilos pueden ser polarizados ya que el grupo R₁ tiene carácter hidrófobo y el grupo R₂, opcionalmente junto con el núcleo -CO-NH- intermedio tiene un cierto carácter hidrófilo. Los compuestos para uso en las composiciones de la presente invención y/o sus componentes R₁ o R₂ pueden ser de aproximadamente 100 %, 95 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %, 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 % lipófilos o hidrófobos.

Otros ejemplos de compuestos para uso en las composiciones de la presente invención son compuestos que tienen la fórmula R₁-CO- NH-R₂ de acuerdo con la descripción de este documento y que tienen la misma actividad (por ej., actividad lipolítica) como el ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico o la N-isopentilooctanamida, o al menos aproximadamente 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de la actividad de cualquiera de estos compuestos.

Todas las realizaciones de los compuestos para uso en las composiciones de la invención pueden estar en estado "aislado". Por ejemplo, un compuesto "aislado" es uno que ha sido totalmente o parcialmente purificado. En algunos casos, el compuesto aislado formará parte de una composición mayor, sistema tampón o mezcla de reactivos. En otras circunstancias, el compuesto aislado puede ser purificado hasta la homogeneidad. Una composición puede comprender el compuesto a un nivel de al menos aproximadamente 50, 80, 90 o 95 % (en base molar o en base en peso) de todas las otras especies que también están presentes en la misma. Las mezclas de los compuestos divulgados se pueden utilizar en la práctica de la invención.

También se divulgan métodos de uso de los compuestos divulgados en la presente memoria en formulaciones o como agentes terapéuticos. Estos métodos pueden implicar el uso de un único compuesto o múltiples compuestos en combinación (es decir, una mezcla). Por consiguiente, también se dan a conocer medicamentos que comprenden compuestos divulgados en la presente memoria y los métodos de fabricación de tales medicamentos.

En ciertos casos, la composición de la invención puede estar dispuesta dentro de dispositivos colocados sobre, en, o bajo la piel. Tales dispositivos incluyen parches transdérmicos, implantes, e inyecciones (por ej., mesoterapia) que liberan las sustancias de una manera tal como para ponerse en contacto con la piel o el folículo piloso, ya sea por mecanismos de liberación pasivos o activos. La sustancia se puede aplicar, por ejemplo, por vía tópica a la epidermis a intervalos regulares, tales como una vez o dos veces al día, en un vehículo adecuado y a una concentración eficaz. Una o más inyecciones en la piel ofrecen otra ruta para la administración de los péptidos de la invención a la piel o cualquier otro tejido.

Las composiciones pueden estar en la forma de un aerosol, emulsión, líquido, loción, crema, pasta, pomada, polvo, espuma u otra formulación farmacéuticamente aceptable. Además, los compuestos pueden administrarse usando menos formulaciones implicadas, tales como agua desionizada/destilada, PBS o soluciones salinas médicas estándar. En general, una formulación farmacéuticamente aceptable incluiría cualquier vehículo adecuado para su uso en la piel humana o en la superficie de la mucosa. Tales vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen etanol, dimetilsulfóxido, glicerol, sílice, alúmina, almidón y vehículos y diluyentes equivalentes. La formulación puede tener opcionalmente atractivo cosmético y/o contener otros agentes tales como retinoides u otros péptidos que pueden actuar como adyuvantes para la acción terapéutica de los péptidos de la invención. También se pueden añadir a la formulación antibióticos con el fin de proteger contra la infección, permitiendo de este modo que se produzcan procesos de curación máxima. Los péptidos terapéuticos y/o cosméticos se pueden utilizar en conjunción con las composiciones de la invención. La concentración del compuesto(s) en la composición puede ser de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 50 µg/ml o aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 100 µg/ml; sin embargo, la concentración final empleada puede variar fuera de estos intervalos, dependiendo de la naturaleza del tejido diana, la actividad biológica del compuesto de la invención y el uso de cualquier adyuvante o técnica para obtener una mayor absorción de la composición. Tales determinaciones están bien dentro de la experiencia normal en la técnica. Por ejemplo, la concentración del compuesto(s) que se utiliza puede ser de aproximadamente 0,1, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 200, 500 o 1.000 µg/ml.

La administración de los compuestos de la invención y las composiciones correspondientes puede hacerse a los seres humanos y animales, incluyendo todos los mamíferos (por ej., cerdos, vacas, caballos, ovejas, cabras, ratones, ratas, gatos, perros, hurones, primates). La aplicación también puede hacerse en combinación con materiales típicos y/o experimentales, tales como injertos de tejidos, productos de cultivo de tejidos, oxígeno y apósitos. En general, la composición se puede administrar por vía tópica, por vía oral, transdérmica, subcutánea, intramuscular, sistémica, o por cualquier otro método conocido por los expertos en la técnica que son útiles para suministrar los compuestos de la invención al tejido diana. Las composiciones también se pueden aplicar de forma in vitro o ex vivo, ya sea a las células o injertos de pacientes que crecen en cultivo, por ejemplo.

Debido a su pequeño tamaño, se espera que los compuestos para su uso en las composiciones de la invención sean capaces de obtener por sí mismos un nivel de permeabilidad a través de la piel; sin embargo, se pueden usar ciertas técnicas para amplificar este movimiento. Por ejemplo, se pueden añadir a los compuestos grupos laterales lipófilos (no polares) o los compuestos pueden ser aplicados a la piel en un excipiente lipófilo, con el fin de mejorar la accesibilidad del compuesto al estrato córneo a fin de permitir la translocación a las capas epidérmicas inferiores. De esta manera puede considerarse que tales modificaciones lipófilas tienen un efecto pro-fármaco. Los potenciadores de la permeación, tales como disolventes y tensioactivos conocidos pueden ser utilizados en el excipiente para permitir una mejor absorción del compuesto. Las técnicas especiales que son útiles en la mejora del acceso del compuesto al tejido/lesión específica, incluyen, regímenes de inyección, iontoforesis, electroforesis y ultrasonido. Estos tratamientos dan lugar a diversos efectos (por ej., cavitación, mezcla, aumento de la temperatura) que pueden mejorar la penetración de los compuestos en la piel u otro tejido objetivo.

Los componentes que se incorporan normalmente en preparaciones para el cuidado de la piel son bien conocidos en la técnica. Junto al componente del compuesto bioactivo, las composiciones de la presente invención pueden contener otros agentes activos tales como niacinamida, fitantriol, farnesol, bisabolol y ácido salicílico. Ciertos agentes activos adicionales actúan de forma sinérgica con el componente del compuesto bioactivo o mejoran la vida útil de la formulación.

Los agentes lipolíticos pueden ser incluidos en las composiciones que comprenden un compuesto como se describe en la presente memoria. Ejemplos de agentes lipolíticos son carnitina, resveratrol, isoproterenol, aminofilina, teofilina, cafeína, derivados de la xantina, teobromina, forskolina, dibutiril AMP cíclico, inhibidores de la AMP cíclico fosfodiesterasa, epinefrina, catecolaminas, niacinamida y pentoxifilina. Las composiciones de la invención también pueden comprender ciertos extractos de plantas/vegetales que son conocidos por actuar como agentes de adelgazamiento. Por ejemplo, en la patente US-4.795.638 se divulga una composición termoadelgazante que contiene un extracto vegetal soluble en aceite que tiene acción adelgazante. Representantes de estos extractos vegetales solubles en aceite son extractos vegetales, incluyendo los de hiedra (*Hedera helix*), árnica (*Arnica montana*), romero (*Rosmarinus officinalis N*), caléndula (*Calendula officinalis*), salvia (*Salvia officinalis N*), ginseng (*Panax ginseng*), hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*), rusco (*Ruscus aculeatus*), reina de los prados (*Filipendula ulmaria L*) y ortosifón (*Ortosifon stamincus Benth*).

Los agentes lipolíticos incluidos en la composición de la invención pueden ser aquellos que inducen la descomposición de las reservas de lípidos en los adipocitos (es decir, células de grasa) u otras células, o aquellos que inducen la degradación de los lípidos que son extracelulares (es decir, no comprendidos en las reservas de grasa celulares). La actividad lipolítica total de un compuesto utilizado en una composición de la invención y otro agente lipolítico cuando están en combinación puede ser mayor que sus propias actividades respectivas cuando se usa por separado el uno del otro (es decir, la sinergia). La lipólisis puede referirse al metabolismo o a la descomposición de triglicéridos, diglicéridos y/o monoglicéridos en glicerol y ácidos grasos libres. Además, la lipólisis puede abarcar la descomposición de triglicéridos en diglicéridos y/o monoglicéridos y ácidos grasos libres.

Los agentes que presentan un efecto de adelgazamiento en la piel, con o sin actividad lipolítica, pueden incluirse en composiciones de la invención. Un ejemplo de tal agente es uno que inhibe la lipogénesis, bloqueando así la deposición de grasa.

Cuando la composición está destinada a estar en contacto con la piel animal o humana, los componentes adicionales deben ser elegidos de forma que sean adecuados para la aplicación al tejido queratinoso (es decir, estables, baja toxicidad, hipoalergénicos). El CTFA Cosmetic Ingredient Handbook, Segunda Edición (1992) describe una amplia variedad no limitativa de ingredientes cosméticos y farmacéuticos comúnmente usados en la industria del cuidado de la piel que son adecuados para uso en las composiciones de la presente invención. Ejemplos de estos ingredientes incluyen: abrasivos, absorbentes, componentes estéticos tales como fragancias, pigmentos, colores/colorantes, aceites esenciales, sensibilizadores de la piel, astringentes, etc. (por ej., aceite de clavo, mentol, alcanfor, aceite de eucalipto, eugenol, lactato de mentilo, hamamelis destilado), agentes anti-acné (por ej., resorcinol, azufre, ácido salicílico, peróxido de benzoilo, eritromicina, zinc), antiaglomerantes, agentes antiespumantes, agentes antimicrobianos (por ej., butilcarmato de yodopropilo), antioxidantes, aglutinantes, aditivos biológicos, agentes tamponantes, agentes de carga, agentes quelantes, aditivos químicos, desnaturizantes, analgésicos externos, polímeros de tamponamiento (por ej., copolímero de eicoseno y vinil pirrolidona), agentes opacificantes, ajustadores del pH, propelentes, agentes reductores, secuestrantes, agentes de blanqueo de la piel y agentes aclaradores (por ej., hidroquinona, ácido kójico, ácido ascórbico [vitamina C], ascorbil fosfato de magnesio, glucosamina ascorbilo), agentes acondicionadores de la piel (por ej., humectantes, entre ellos otros varios y oclusivos), agentes suavizantes y/o curativos de la piel (por ej., pantenol y derivados [por ej., etil pantenol], aloe vera, ácido pantoténico y sus derivados, alantoína, bisabolol, glicirricinato dipotásico), espesantes, materiales particulados, agentes estructurantes y vitaminas. Muchos de estos agentes se describen en detalle en la patente US-6.492.326 específicamente con respecto a las diversas descripciones de los ingredientes.

Las composiciones de la presente invención pueden contener un material en partículas tal como un óxido metálico. Estos materiales en partículas pueden estar recubiertos o sin recubrir, cargados o sin carga. Ejemplos de materiales en partículas no limitativos útiles para la preparación de la presente invención incluyen oxiclورو de bismuto, óxido

de hierro, mica, mica tratada con sulfato de bario y TiO_2 , sílice, nylon, polietileno, talco, estireno, polipropileno, copolímero de etileno/ácido acrílico, sericita, óxido de aluminio, resina de silicona, sulfato de bario, carbonato de calcio, acetato de celulosa, dióxido de titanio, polimetacrilato de metilo y mezclas de los mismos. Materiales en partículas inorgánicas tales como el TiO_2 , ZnO (óxido de zinc) o ZrO_2 se pueden adquirir comercialmente en diversas fuentes. Los materiales en partículas pueden estar presentes en la composición a niveles de desde 0,01 % hasta 2 % en peso, o de desde 0,05 % hasta 1,5 % en peso, o desde 0,1 % hasta 1 % en peso (todas las medidas aproximadas).

Las composiciones de la presente invención pueden contener un agente acondicionador seleccionado entre humectantes, hidratantes o acondicionadores de la piel. Varios de estos materiales puede emplearse y cada uno puede estar presente a un nivel de desde aproximadamente 0,01 % a 20 % o de desde aproximadamente 0,1 % a 10 % o de desde aproximadamente 0,5 % a 7 % en peso de la composición (todas las medidas aproximadas). Estos materiales incluyen, pero no están limitados a, guanidina; urea; ácido glicólico y sales de glicolato (por ej., amonio y alquilamonio cuaternario); ácido salicílico; ácido láctico y sales lactato (por ej., amonio y alquil amonio cuaternario); aloe vera en cualquiera de sus variedades o formas (por ej., gel de aloe vera); alcoholes polihidroxilados tales como sorbitol, manitol, xilitol, eritritol, glicerol, glicerina, hexanotriol, butanotriol, propilenglicol, butilenglicol y hexilenglicol; polietilenglicoles; azúcares (por ej., melibiosa) y almidones; derivados de azúcar y almidón (por ej., glucosa alcoxilada, fructosa, glucosamina); ácido hialurónico; monoetanolamina lactamida; monoetanolamina acetamida; pantenol; alantoína; vaselina y sus mezclas.

Las composiciones de la presente invención pueden contener un agente estructurante, que se puede utilizar para la preparación de una emulsión de aceite-en-agua. Sin adherirse a una teoría, se cree que el agente estructurante ayuda a proporcionar características reológicas a la composición que contribuyen a la estabilidad de la composición. Por ejemplo, el agente estructurante tiende a ayudar en la formación de estructuras de la red cristalina líquida en gel. El agente estructurante puede funcionar también como un emulsionante o tensioactivo. Las composiciones de la presente invención pueden contener de aproximadamente 0,1 % a 20 %, de aproximadamente 0,1 % a 10 %, o de aproximadamente 0,5 % a 9 % de uno o más agentes estructurantes en peso de la composición (todas las medidas aproximadas).

Los agentes estructurantes que se pueden incorporar en las composiciones de la presente invención se seleccionan de ácido esteárico, ácido palmítico, alcohol estearílico, alcohol cetílico, alcohol behenílico, polietilenglicol éter de alcohol estearílico que tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 unidades de óxido de etileno, polietilenglicol éter de alcohol cetílico que tiene una media de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 unidades de óxido de etileno y sus mezclas. Otros agentes estructurantes que se pueden usar en las composiciones de la presente invención se seleccionan de alcohol estearílico, alcohol cetílico, alcohol behenílico, polietilenglicol éter de alcohol estearílico que tiene una media de aproximadamente 2 unidades de óxido de etileno (Steareth-2), polietilenglicol éter de alcohol cetílico que tiene una media de aproximadamente 2 unidades de óxido de etileno, y sus mezclas.

Métodos:

También se describen métodos de uso de un compuesto descrito en la presente memoria para el tratamiento de la piel. Tal tratamiento puede estar dirigido a la epidermis, dermis, o capa subcutánea de la piel, por ejemplo. El propósito de tal tratamiento puede ser reducir la cantidad de grasa subcutánea o prevenir la acumulación de grasa subcutánea. Un ejemplo de tratamiento de la piel es la administración de un compuesto a la piel a través de una capa subcutánea que comprende una distribución de la grasa que es anormal con respecto al tejido subcutáneo normal. Otro ejemplo de tratamiento de la piel es la administración de un compuesto a la piel a través de una capa subcutánea que es propensa a desarrollar una distribución de grasa que es anormal con respecto al tejido subcutáneo normal. La celulitis (conocida también como adiposis edematosa, dermopaniculosis deformante, status protrusus cutis, lipodistrofia ginoide) es un ejemplo de un trastorno de la piel que puede tratarse o prevenirse por estos métodos. Las zonas de la piel que son propensas a desarrollar celulitis son los muslos, las nalgas, la región pélvica, los miembros inferiores y el abdomen, por ejemplo. Aunque sin adherirse a ninguna teoría particular, los compuestos divulgados en esta memoria pueden tratar o prevenir trastornos de deposición/acumulación de grasa anormal en la piel estimulando (i) la lipólisis en los adipocitos, en particular los adipocitos del tejido subcutáneo y/o (ii) reduciendo o previniendo la adipogénesis en el tejido subcutáneo.

Los métodos también están dirigidos a tratar o prevenir otros trastornos de deposición anormal de grasa en la piel además de la celulitis. Por ejemplo, un compuesto puede ser utilizado para tratar o prevenir el lipedema, que también se conoce como síndrome de grasa doloroso. Los métodos también pueden ir dirigidos a tratar o prevenir los lipomas u otros crecimientos grasos, a tratar o prevenir el exceso de peso localizado o a bloquear o reducir la lipogénesis o la adipogénesis (es decir, promover la anti-lipogénesis o la anti-adipogénesis). Una característica anti-adipogénesis de los métodos es la capacidad de reducir la acumulación de lípidos en el citoplasma de los adipocitos. Como resultado de este efecto a nivel celular, otra característica anti-adipogénesis es la capacidad de reducir el crecimiento del tejido adiposo o hipertrofia. Otra característica más en estas líneas es la capacidad para bloquear o reducir la diferenciación de preadipocitos o fibroblastos en adipocitos. Por "reducir", "inhibir", "bloquear" o "prevenir" como se menciona en la presente memoria, se entiende que un compuesto reduce la incidencia, gravedad, tamaño,

volumen o síntomas asociados de un trastorno o actividad en al menos aproximadamente el 7,5 %, 10 %, 12,5 %, 15 %, 17,5 %, 20 %, 22,5 %, 25 %, 27,5 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 90 % o 100 % comparado cómo existiría normalmente el trastorno sin la aplicación del compuesto o la composición que comprende el compuesto.

5 Los compuestos para uso en las composiciones como se describe en la presente memoria pueden ser utilizados para estimular la lipólisis en células tales como adipocitos, en particular los adipocitos en la piel o en la capa subcutánea de la piel. Esto es útil en el tratamiento o la prevención (inhibición) de trastornos, tales como la celulitis. Como se refiere en la presente memoria, estimular, inducir, regular al alza, elevar o aumentar la lipólisis en células
10 tales como adipocitos significa aumentar el nivel de lipólisis en dichas células respecto a un nivel basal de lipólisis (por ej., estado de reposo sin compuesto añadido) o un nivel de lipólisis inducido por agentes no activos tales como agua. Tal incremento sería de por lo menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 90 %, 100 %, 150 %, 200 %, 300 %, 400 %, 500 %, 1.000 % o 10.000 %.

15 Los expertos en la técnica entenderían que, cuando el tratamiento se dirige en última instancia a la capa subcutánea de la piel, las formulaciones se pueden aplicar a la piel que recubre la región subcutánea específica. Alternativamente, se pueden aplicar métodos tales como la mesoterapia que emplea un régimen de inyección para colocar directamente un compuesto terapéutico o cosmético en las capas más profundas de la piel, tales como la capa subcutánea.

20 Los compuestos para uso en las composiciones de la presente invención aumentan la producción de glicerol por células tales como adipocitos. Aunque sin adherirse a ninguna teoría particular, esta actividad puede estar relacionada con la actividad lipolítica de los compuestos, que estimula el metabolismo/descomposición de los triglicéridos (también diglicéridos y monoglicéridos) en glicerol libre y ácidos grasos libres. En la presente memoria se describen métodos para aumentar la producción de glicerol por los adipocitos en la piel, particularmente en la
25 capa subcutánea de la piel, por tratamiento de la piel con uno o más compuestos para su uso en las composiciones de la presente invención. El aumento en la producción de glicerol en la piel es beneficioso dado sus efectos de hidratación y protectores. Esta característica es una ventaja añadida a la de adelgazamiento y tonificación de la piel que se produce como resultado de la lipólisis de los depósitos de grasa en la piel. Las personas con piel seca o piel
30 que se irrita fácilmente, por ejemplo, se beneficiarán de la producción de glicerol, al igual que los que tratan de mantener el tono de la piel normal y la suavidad.

Debe ser evidente que los métodos divulgados pueden ser utilizados terapéuticamente o cosméticamente. En cuanto a este último uso, la presente invención mantiene las características de una piel sana, normal, tales como el
35 tono, la elasticidad, la hidratación, la coloración, la firmeza y la suavidad. Todas estas cualidades pueden degradarse con el aumento de la deposición de grasa subcutánea.

Aunque esta descripción está dirigida en general a la descripción de las composiciones de la invención como estimulantes de la lipólisis en las células, también debe entenderse que las composiciones de la invención actúan
40 inherentemente contra la lipogénesis, proceso que tiene como resultado la producción de la esterificación de ácidos grasos en glicerol, dando lugar a triglicéridos, diglicéridos y monoglicéridos.

Los tejidos que pueden ser objetivo son la piel y los tejidos de las mucosas asociados de la piel. Un tejido de la mucosa asociado de la piel es cualquier tejido organizado de una manera similar a la piel, que contiene células
45 epiteliales y está directamente continuo a la piel. Ejemplos de tales tejidos son las superficies oral, nasofaríngea, aural, anal y urogenital, así como la conjuntiva palpebral del ojo. Otros tejidos que pueden ser objetivo son los derivados del ectodermo, mesodermo y endodermo, o que comprenden células epiteliales, células mesenquimales (por ej., fibroblastos), células musculares o células nerviosas (por ej., neuronas). Otros órganos, sistemas de
50 órganos y tejidos son, por ejemplo, el sistema circulatorio (por ej., el corazón, la sangre, los vasos sanguíneos), sistema digestivo (por ej., las glándulas salivales, el esófago, el estómago, el hígado, la vesícula biliar, el páncreas, el intestino delgado y grueso, el recto), sistema endocrino (por ej., el hipotálamo, la hipófisis, la glándula pineal, el tiroides, el paratiroides, las glándulas suprarrenales), el sistema tegumentario (por ej., la piel, el cabello, las uñas), el sistema linfático (por ej., los ganglios linfáticos y los vasos), el sistema inmunitario (por ej., las amígdalas, el adenoides, el timo, el bazo), el sistema muscular (por ej., el músculo cardíaco, el músculo liso, el músculo
55 esquelético), el sistema nervioso (por ej., el cerebro, la médula espinal, los nervios periféricos, los nervios), el sistema reproductivo (por ej., los ovarios, las trompas de Falopio, el útero, la vagina, las glándulas mamarias, los testículos, los conductos deferentes, las vesículas seminales, la próstata, el pene), el sistema respiratorio (por ej., la faringe, la laringe, la tráquea, los bronquios, los pulmones, el diafragma), el sistema esquelético (por ej., los huesos, el cartílago, los ligamentos, los tendones) y el sistema excretor (por ej., los riñones, los uréteres, la vejiga, la uretra).
60 Ciertas realizaciones de esta descripción se pueden extrapolar a la aplicación de un compuesto a uno de los tejidos anteriores (por ej., la piel) o células (por ej., adipocitos, queratinocitos, células epiteliales, células de la piel, fibroblastos) de una manera que no induce toxicidad a la misma.

Se incluyen los siguientes ejemplos para demostrar ciertas realizaciones de esta divulgación.

65

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico (HB2031)

5 Se utilizó el siguiente proceso para hacer reaccionar leucina con ácido octanoico para formar ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico, que se representa en la Figura 2A. Se agitó resina Fmoc-leucina (ácido Fmoc-2-amino-4-metil pentanoico)-Wang en piperidina 25 % en dimetilformamida (DMF) durante 20 minutos a temperatura ambiente. Después de filtrar y lavar con DMF seis veces, la prueba de Kaiser dio positivo (listo para el acoplamiento). El acoplamiento de ácido octanoico se realizó con tres equivalentes molares de los grupos amino de la resina leucina seguido de cantidades molares iguales al ácido octanoico de hexafluorofosfato de benzotriazol-1-oxi-tris(pirrolidino)fosfonio (PyBop) e hidroxibenzotriazol hidrato (HOBt) de DMF. Tras la adición de 1,3 equivalentes de diisopropiletilamina (DIEA) a los otros reactivos en la reacción, se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de filtrar la resina y lavarla tres veces con DMF y tres veces con DCM (diclorometano), la prueba de Kaiser dio negativo, lo que es indicativo de una reacción completa.

15 La resina seca se suspendió en ácido trifluoroacético (TFA) y agua (149:1) y se agitó durante 2 horas. La resina se filtró y luego se lavó tres veces con TFA. Los filtrados combinados se evaporaron en un evaporador rotatorio para eliminar el TFA. El producto se disolvió en éter dietílico (Et₂O) y se extrajo tres veces con ácido acético al 5 % en agua, agua, bicarbonato de sodio saturado en agua y con agua. La fase Et₂O se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y el sulfato de sodio se lavó tres veces con Et₂O. Los filtrados combinados se evaporaron en un evaporador rotatorio dando un sólido.

Ejemplo 2: Síntesis de N-isopentiloctanamida (HB2032)

25 Se utilizó el siguiente proceso para sintetizar N-isopentiloctanamida (Figura 2B), que es un análogo del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico. El ácido octanoico se combinó con una cantidad molar igual de N-isopentilamina en DCM (diclorometano) y se agitó durante cinco minutos. Se añadió hexafluorofosfato de benzotriazol-1-oxi-tris(pirrolidino)fosfonio (PyBop) e hidrato de hidroxibenzotriazol (HOBt) equivalente a las cantidades molares de los dos primeros componentes, seguido de 1,3 equivalentes de diisopropiletilamina (DIEA) y la reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución se extrajo tres veces con ácido acético al 5 % en agua, agua, bicarbonato de sodio saturado en agua y con agua. La fase de DCM se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el sulfato de sodio se lavó tres veces con DCM. Los filtrados combinados se evaporaron en un evaporador rotatorio dando un aceite.

Ejemplo 3: Medición de los efectos del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y N-isopentiloctanamida sobre la lipólisis y la adipogénesis

Lipólisis:

40 Como se muestra en la Figura 3, tanto los ácidos grasos libres como el glicerol son los productos de la lipólisis y, por lo tanto, la medición de la liberación de ácido graso libre se correlaciona directamente con el grado de actividad lipolítica en los adipocitos. El grado de liberación de ácido graso se puede utilizar para medir el nivel relativo de liberación de glicerol dada esta correlación. Los siguientes métodos se utilizaron para determinar el efecto del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y la N-isopentiloctanamida sobre la lipólisis en los adipocitos.

45 La inducción de la lipólisis en los adipocitos diferenciados se determinó en los adipocitos 3T3-L1 utilizando un kit de ensayo de ácidos grasos fabricado por BioVision (Mountain View, CA) (kit de cuantificación de ácidos grasos libres, N° Cat. K612-100). La liberación de ácido graso libre se correlaciona con un aumento en el nivel de glicerol. Los adipocitos para estos ensayos se prepararon como sigue. Se adquirieron preadipocitos murinos 3T3-L1 de la American Type Culture Collection (ATCC) (CL-173™). Las células se cultivaron en medio completo (ATCC-Medio de Eagle Modificado de Dulbecco suplementado con suero bovino de ternera 10 %) y se dejó alcanzar el 100 % de confluencia. La inducción de la diferenciación o la adipogénesis se llevó a cabo en medio completo. En el día 0, las células fueron tratadas con medio completo que contenía agentes de inducción (100 µg/ml de isobutilmetilxantina (Sigma, St. Louis, MO), 5 µg/ml de insulina y 2 µg/ml de dexametasona). En el día 3, las células se cambiaron a medio completo que contenía 5 µg/ml de insulina y se incubaron durante 2-3 días. A continuación, las células se mantuvieron en medio completo durante 3-6 días, momento en el que la mayoría de las células desarrolló gotitas de lípidos intracelulares observables.

50 Para analizar los efectos del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y la N-isopentiloctanamida sobre la lipólisis, las células (adipocitos preparados anteriormente) se trataron con cualquiera de estos compuestos a 100 µg/ml. Alternativamente, las células fueron tratadas durante la noche con determinadas sustancias (por ej., resveratrol, isoproterenol, aminofilina, teofilina) (100 µg/ml) que previamente se sabía que inducían la lipólisis. El sobrenadante de cada uno de los cultivos se midió por la liberación relativa de glicerol estimada utilizando el kit de cuantificación de ácidos grasos libres de BioVision siguiendo las instrucciones del fabricante.

65 La Figura 4 muestra que el ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico (HB2031) y la N-isopentiloctanamida (HB2032) indujo la producción de ácidos grasos libres en los adipocitos (como se determina mediante la medición de

la producción de ácidos grasos libres) en un grado mayor que todos los demás compuestos ensayados incluyendo isoproterenol, aminofilina y teofilina. Cuando el ensayo anterior se realizaba por triplicado con isoproterenol, HB2031 y HB2032, los dos últimos compuestos demostraron ser significativamente más activos que el isoproterenol (Figura 5). Tanto HB2031 como HB2032 no fueron citotóxicos para los adipocitos 3T3-L1 en las concentraciones utilizadas para simular la lipólisis (datos no presentados).

Adipogénesis:

La producción de gotitas de lípidos intracelulares en los adipocitos es una característica de la adipogénesis. Por lo tanto, la adipogénesis se monitorizó mediante tinción de las gotitas de lípidos en las células utilizando el kit de ensayo de adipogénesis de Cayman (Ann Arbor, MI) siguiendo las instrucciones del fabricante. Este ensayo tiñe lípidos celulares con tinte aceite rojo O.

Para analizar los efectos del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y de la N-isopentiloctanamida sobre la adipogénesis, estos compuestos se añadieron individualmente a un cultivo celular donde se indujo la adipogénesis (día 0) (véase el protocolo anterior) y se mantuvo en el cultivo durante todo el proceso de diferenciación. El control positivo en este ensayo para la formación de los adipocitos fue un cultivo de células que habían sido inducidas a experimentar diferenciación de pre-adipocitos a adipocitos sin la adición de un compuesto de ensayo (Figura 6B). Después de un período de inducción de 7 días, el 50-70 % de las células en el control positivo se diferenciaron totalmente con acumulación visible de múltiples gotitas de lípidos citoplasmáticos como se observa bajo un microscopio de disección. El control negativo fue un cultivo celular que se incubó en medio completo sin agentes de inducción de la adipogénesis (Figura 6A).

La N-isopentiloctanamida (HB2032) inhibió la diferenciación de las células en adipocitos ralentizando la formación de células agrandadas, así como la acumulación de gotitas de lípidos intracelulares. Estos efectos se observaron en una manera dependiente de la concentración (figuras 6C, D, E) (consulte la leyenda de la figura) y en comparación con el control positivo para la inducción de los adipocitos (Figura 6B). De las células que fueron tratadas con una baja concentración de HB2032 (por ej., Figura 6C), un número significativo se diferenció; sin embargo la intensidad de la formación de lípidos celulares se redujo significativamente, como se indica por la tinción de rojo O de aceite reducida.

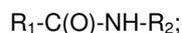
Ejemplo 4: Medición de los niveles de citotoxicidad del ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico y de la N-isopentiloctanamida

El ensayo MTT EpiDerm™ (MatTek, Ashland, MA) se utilizó para determinar si el ácido 4-metil-2-(octanoilamino)pentanoico (HB2031) y la N-isopentiloctanamida (HB2032) presentan algún nivel de citotoxicidad hacia tejidos de la piel. El modelo de piel EpiDerm™ consiste en capas basales, espinosas, granulares y cornificadas análogas a las que existen *in vivo* y presenta características morfológicas y de crecimiento similares a las que existen *in vivo* que son uniformes y altamente reproducibles. Como se muestra en la Figura 7, no hubo diferencia en la viabilidad celular (determinada por la DO a 570 nm) entre tratamientos con HB2031 o HB2032 en comparación con el vehículo de glicerina. Ambos compuestos tampoco mostraron ninguna toxicidad para el mismo tejido de la piel cuando se trataba a 1 mg/ml durante 24 horas (datos no mostrados).

Todas las composiciones o métodos divulgados y reivindicados en la presente memoria pueden realizarse y ejecutarse sin experimentación indebida a la luz de la presente descripción. Aunque esta invención se ha descrito en términos de ciertas realizaciones, será evidente para los expertos en la técnica que se pueden aplicar variaciones por ejemplo, en las etapas o en la secuencia de pasos de los métodos descritos en la presente memoria sin apartarse del concepto y alcance de la invención. Más específicamente, será evidente que ciertos agentes que están tanto química como fisiológicamente relacionados pueden ser sustituidos por los agentes descritos en la presente memoria, mientras que se lograrían los mismos o similares resultados. Todos estos sustitutos y modificaciones similares evidentes para los expertos en la técnica se consideran dentro del alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para uso en el tratamiento terapéutico de la piel de un mamífero para reducir la cantidad de grasa subcutánea o prevenir la acumulación de grasa subcutánea, comprendiendo dicha composición un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde el compuesto es de la fórmula:



en la que

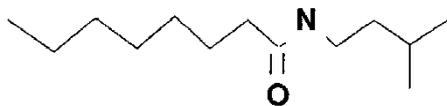
R_1 comprende una cadena de 5 a 35 átomos de carbono, la porción $R_1-C(O)$ de la fórmula es un grupo acilo graso, y la porción $NH-R_2$ de dicha fórmula comprende:

- (i) un aminoácido, en el que el grupo R_2 comprende el carbono alfa, un grupo carboxilo y un grupo lateral de dicho aminoácido y en el que el grupo NH está unido al carbono alfa de dicho aminoácido o
- (ii) un análogo de dicho ácido amino, en donde dicho análogo difiere de dicho aminoácido por la falta del grupo carboxílico unido al carbono alfa del aminoácido, en donde el grupo R_2 comprende el carbono alfa y el grupo lateral de dicho aminoácido y en donde el grupo NH está unido al carbono alfa de dicho análogo.

2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el grupo lateral de dicho aminoácido es hidrófobo.

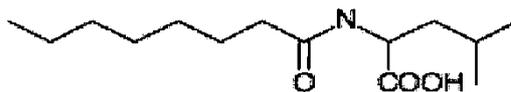
3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho aminoácido es leucina, isoleucina, valina o alanina.

4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho compuesto es de la fórmula:



(N-isopentil-octanamida) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho compuesto es de la fórmula:



(ácido 4-metil-2-(octanoylamino) pentanoico) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

6. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la cadena de R_1 comprende de 7 a 21 átomos de carbono.

7. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el grupo acilo graso es un grupo octanoilo.

8. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 6 y 7, en la que R_2 comprende de 1 a 15 átomos de carbono.

9. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 6-8, en la que R_2 comprende de 5 a 9 átomos de carbono y R_1 comprende de 5 a 13 átomos de carbono.

10. La composición para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 y 6-9, en la que el grupo acilo graso está saturado.

11. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde dicha composición está en forma de un aerosol, una emulsión, un líquido, una loción, una crema, una pasta, un ungüento, un polvo o una espuma.

12. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha composición comprende además carnitina, resveratrol, isoproterenol, aminofilina, teofilina o cafeína.

13. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 en donde dicha composición se administra a la piel sobre una capa subcutánea o se inyecta directamente en una capa subcutánea que

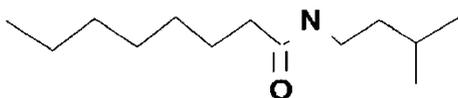
- 5 (i) comprende una distribución de grasa que es anormal con respecto al tejido subcutáneo normal o
 (ii) es propensa a desarrollar una distribución de grasa que es anormal con respecto al tejido subcutáneo normal.

10 14. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que dicha composición se administra a la piel para tratar o prevenir el exceso de peso localizado, hipertrofia del tejido adiposo, lipedema, lipoma u otros crecimientos grasos.

15 15. La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-12, en la que se reduce la adipogénesis por un pre-adipocito o una célula adipocito.

16. La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-12, en la que se estimula el metabolismo lipolítico en una célula adipocito.

20 17. Una formulación cosmética para aplicar a la piel de un mamífero, que comprende la celulitis o la piel que es propensa a desarrollar celulitis, para reducir la cantidad de grasa subcutánea o prevenir la acumulación de grasa subcutánea, comprendiendo dicha formulación un vehículo adecuado para su uso en la piel humana o en la superficie de la mucosa y un compuesto, o una sal del mismo, donde el compuesto es:



(N-isopentil-octanamida) .

25 18. La formulación de la reivindicación 17, en la que dicha composición comprende además carnitina, resveratrol, isoproterenol, aminofilina, teofilina o cafeína.

30 19. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 17 o 18, en la que dicha composición se administra a la piel que comprende la celulitis o la piel que es propensa a desarrollar celulitis.

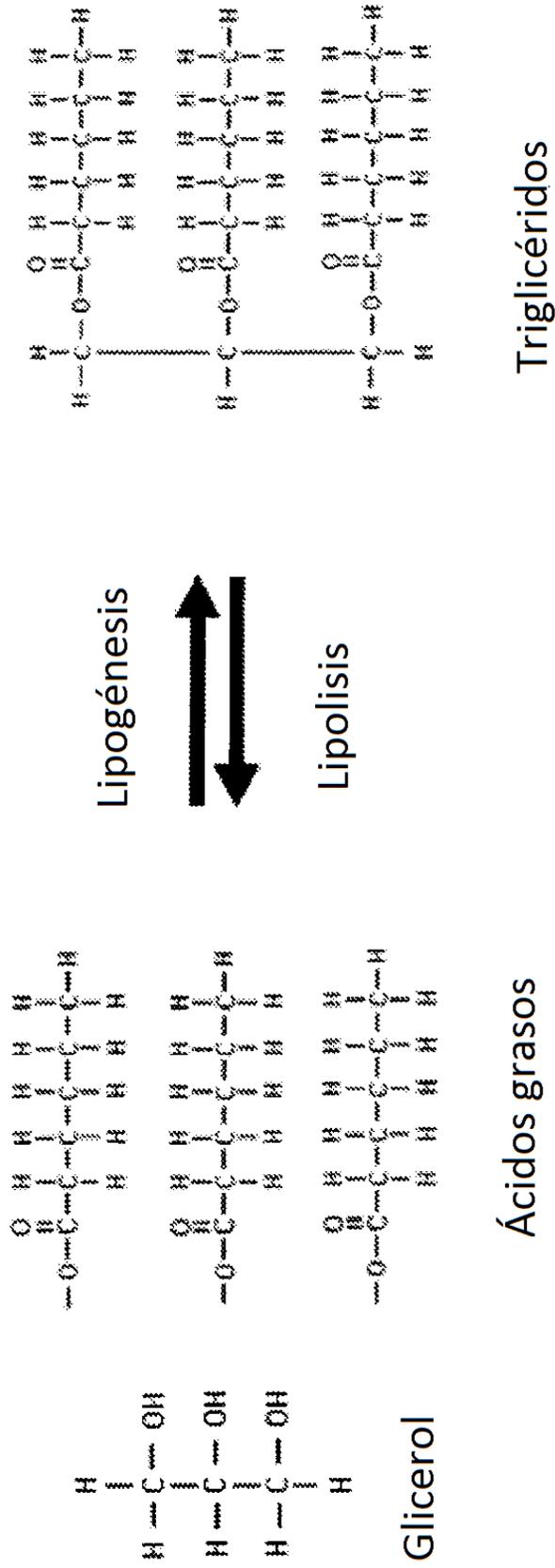
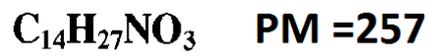
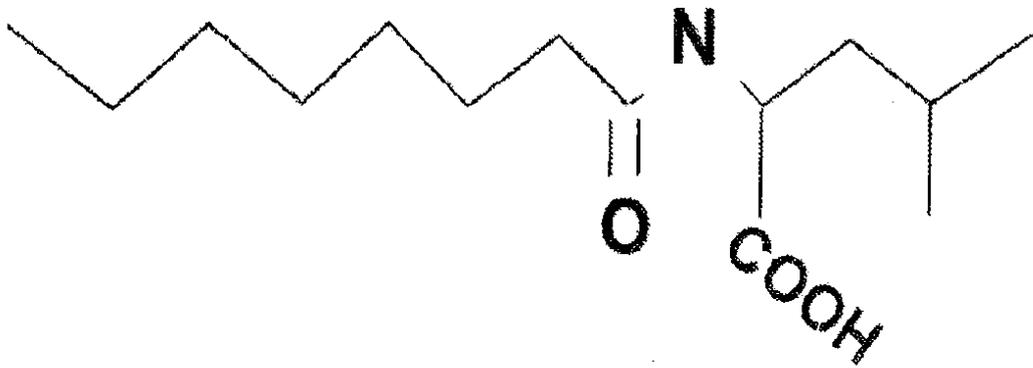


FIG. 1

A

Ácido 4-metil-2-(octanoilamino) pentanoico



B

N-isopentilooctanamida

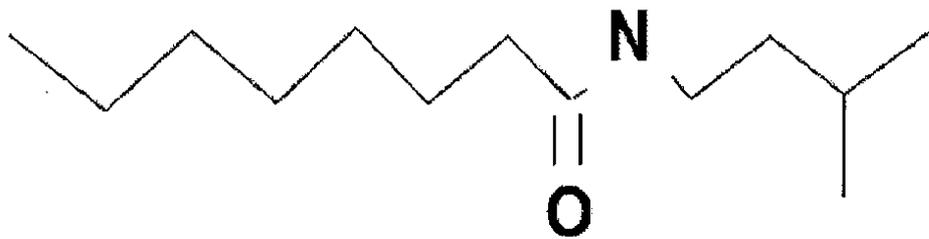


FIG. 2

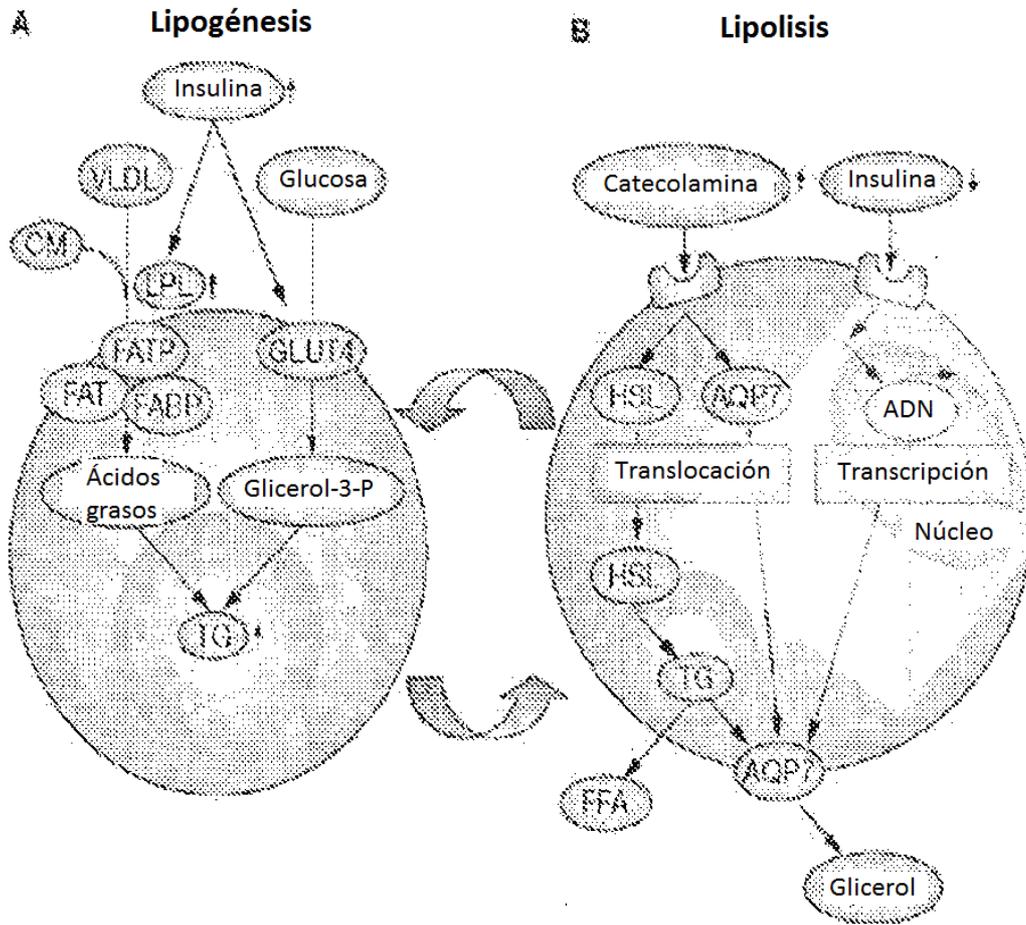


FIG. 3

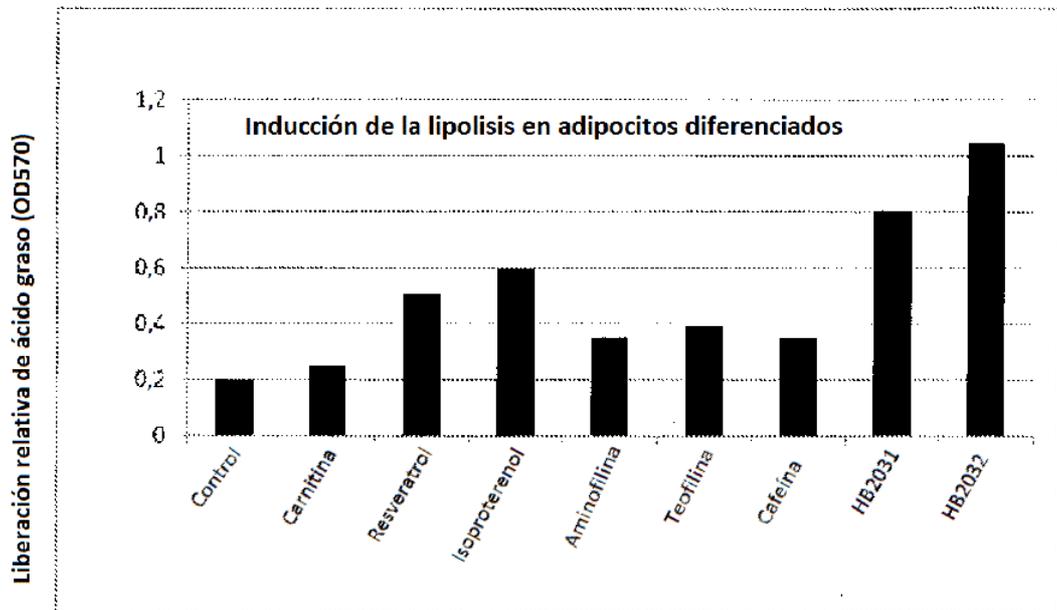


FIG. 4

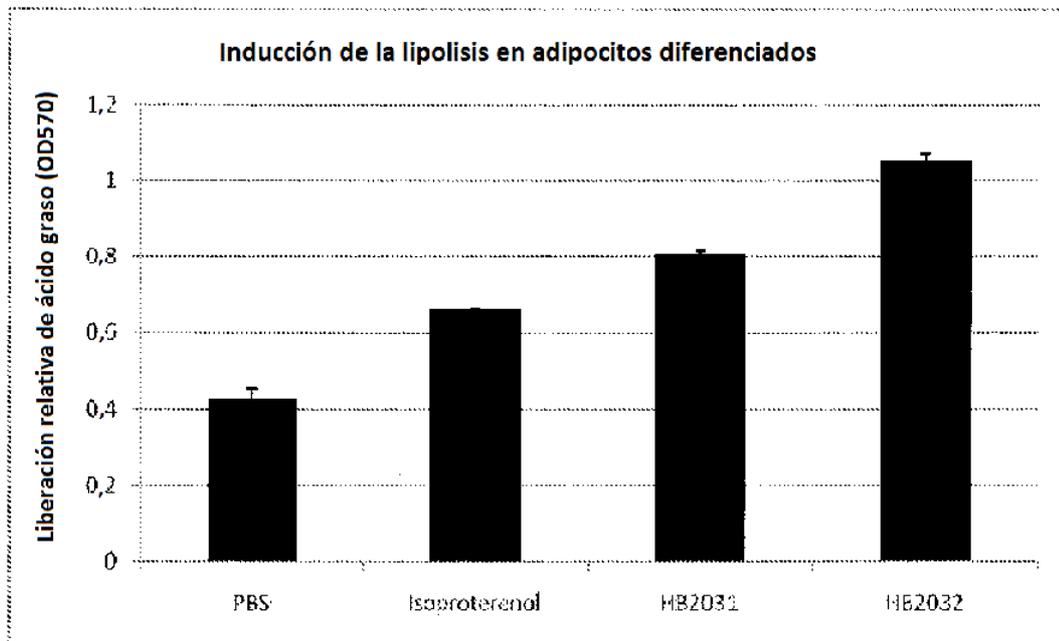


FIG. 5

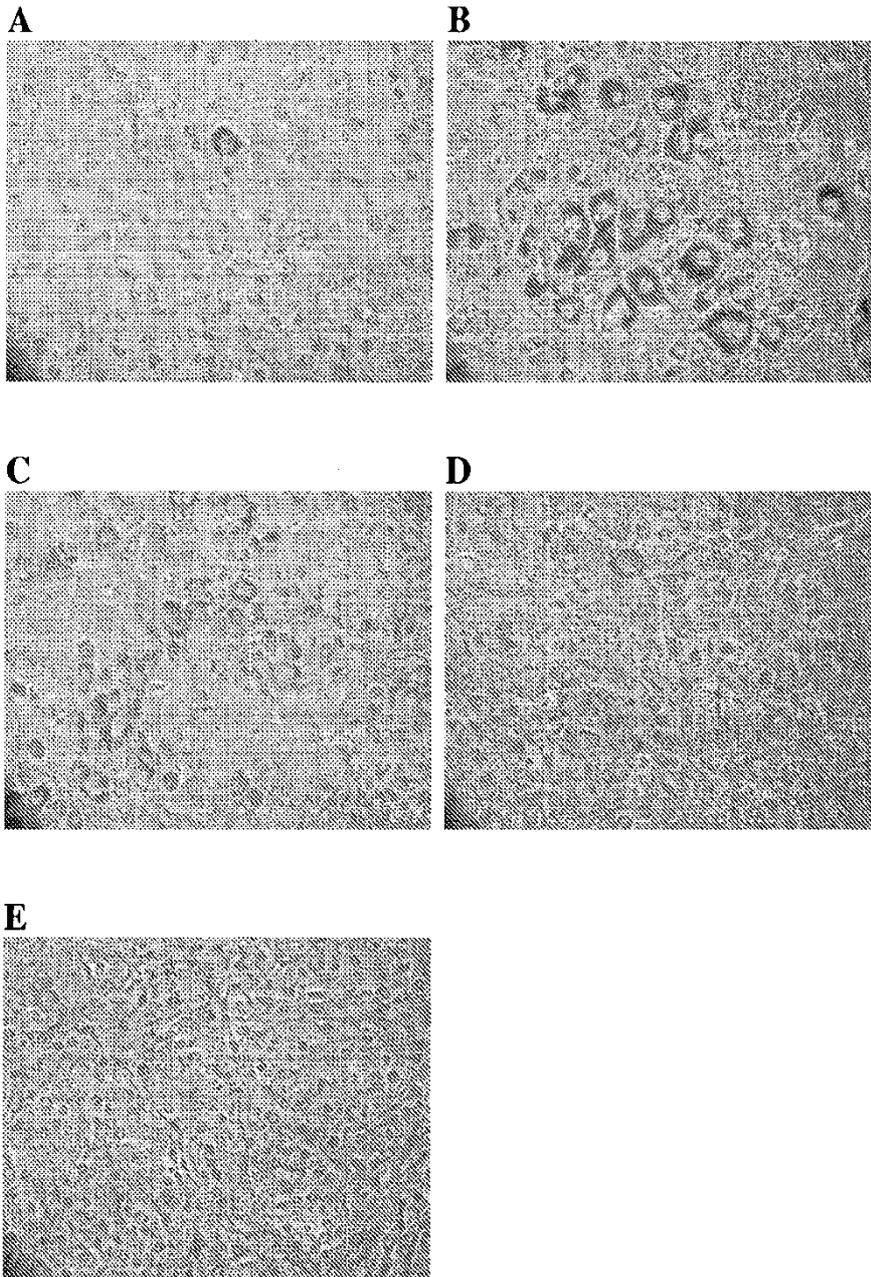


FIG. 6

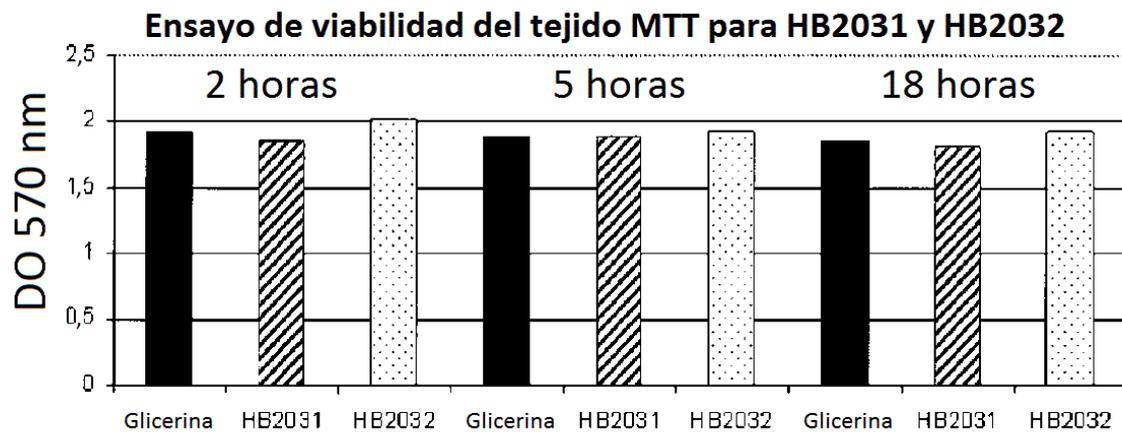


FIG. 7